



Universidade de Aveiro Departamento de Química
Ano 2016

Pedro Jorge Neves
Sardo Leite Santos

EXTRAÇÃO DE BIOMASSA INDUSTRIAL DE
Eucalyptus globulus



**Pedro Jorge Neves
Sardo Leite Santos**

**EXTRAÇÃO DE BIOMASSA INDUSTRIAL DE
*Eucalyptus globulus***

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Engenharia Química, realizada sob a orientação científica do Doutor Carlos Manuel Silva, Professor auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, e coorientação do Mestre Marcelo M.R. de Melo, Doutorando do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, e do Engº Pedro Sarmento, Diretor de Desenvolvimento de Produto no RAIZ, Instituto de Investigação de Floresta e Papel.

Aos meus pais e ao meu irmão

o júri

presidente

Prof. Doutora Maria Inês Purcell de Portugal Branco
professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Carlos Manuel Silva
professor auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Eng. Alexandre Miguel Ricardo Gaspar
RAIZ, Instituto de Investigação de Floresta e Papel

agradecimentos

Gostaria de agradecer, em primeiro lugar, ao Prof Doutor Carlos Manuel Silva pela oportunidade de realizar esta tese de mestrado, pela orientação científica, pela amizade, pela disponibilidade e por todo o apoio ao longo deste percurso.

Um agradecimento também ao Mestre Marcelo Melo pela coorientação desta tese, pela disponibilidade para todas as dúvidas, mesmo aquelas que à primeira vista eram mais simples, pelo apoio na realização do trabalho experimental, principalmente nas novas técnicas e procedimentos.

A todos os que comigo partilharam o espaço de trabalho no grupo de investigação *Egichem*, pela disponibilidade com que me receberam, pela simpatia que demonstram, pela boa disposição, pelo gosto pelo trabalho que realizam e por todo o bom ambiente.

A todos os que, ao longo da minha vida me marcaram, me fizeram crescer, e me acompanharam, em especial àqueles com quem, nos últimos anos, tive oportunidade de conviver e estreitar laços.

Por fim, um agradecimento especial à minha família, aos meus pais, ao meu irmão, à minha namorada, e aos meus avós, por todo o apoio ao longo da minha vida, por todo o carinho, por todos os ensinamentos, e por toda a paciência demonstrada.

palavras-chave

Eucalyptus globulus, extração sólido-líquido, ácidos triterpénicos, análise técnico-económica

resumo

Esta dissertação nasce de uma parceria entre a Universidade de Aveiro e o Raiz, Instituto de Investigação da Floresta e Papel, para o estudo de um processo para a produção de um extrato de eucalipto enriquecido em ácidos triterpénicos para integrar a alimentação animal.

O trabalho pode ser dividido em três partes, uma primeira de caracterização das matérias-primas e estudo preliminar de variáveis influentes para o processo de extração, uma segunda parte de otimização experimental de condições de operação e, por fim, uma análise técnico-económica a uma possível implementação de um processo de extração sólido-líquido à escala industrial.

Realizaram-se ensaios preliminares para avaliar a influência do solvente (metanol vs diclorometano), humidade da biomassa (humidade natural vs seco), solubilidade de ácidos triterpénicos em misturas de metanol/água com diferentes concentrações.

As variáveis que apresentam um maior impacto sobre o rendimento total de extração e o rendimento em ácidos triterpénicos são: o tempo de extração, o modo de operação e o rácio solvente/biomassa.

Para os dois rácios solvente/biomassa escolhidos após a otimização experimental, de 5 e 7.5 mL/g obtiveram-se, a partir das respetivas curvas de extração, os tempos ótimos de 0.67 e 0.79 h, respetivamente, com um rendimento total de extração de 1.9 e 2.2 % (m/m).

A análise tecno-económica demonstrou que as matérias-primas, nomeadamente o solvente, têm um impacto significativo no custo de produção. A recuperação do solvente que se encontra impregnado na biomassa permite obter um custo de produção de 5.7 e 6.8 €/kg para os rácios solvente/biomassa de 5 e 7.5 mL/g respetivamente. Para o menor rácio, a reutilização do solvente, sem purificação, entre passos consecutivos de extração permite uma redução do custo de produção para os 4.1 €/kg

keywords

Eucalyptus globulus, solid-liquid extraction, triterpenic acids, techno-economic analysis

abstract

The present work starts from a partnership between Universidade de Aveiro and RAIZ, Instituto de Investigação da Floresta e Papel for the study of an industrial process for the production of a eucalyptus extract rich in triterpenic acids.

This work can be divided in three main parts. In the firstone we focused in the characterization of the raw materials to be used in the extraction process. Next the work was developed with the goal of determining the conditions that maximize the process output. At last a techno-economic analysis was performed for the implementation of a solid-liquid extraction process at industrial scale.

Preliminary work was developed to evaluate the influence of solvent (methanol vs dichloromethane), biomass humidity (natural humidity vs dried) and triterpenic acids solubility in methanol/water mixtures with dfferent concentrations.

The independent variables that have a possible bigger impact in extraction total yield and triterpenic acids total yield are: extraction time, extraction operation type and solvent/biomass ratio.

For the two solvent/biomass ratios chosen after experimental optimization, of 5 and 7.5 mL/g, the extraction curves were measured, and the optimum extraction times calculated, of 0.67 and 0.79 h, respectively, with a total yield at the optimum extraction time of 1.9 and 2.2 %(m/m).

Techno-economic analysis demonstrated that raw materials, in particular the organic solvent, may have a significant impact on the cost of manufacture. Recovery of the impregnated solvent in biomass allows a cost reduction to 5.7 and 6.8 €/kg for the two solvent/biomass rations studied of 5 and 7.5 mL/g respectively. For the lowest ratio, the re-use of the solvent in consecutive extraction steps, without purification, allowed for a reduction of the cost of manufacture to 4.1 €/kg.

Índice

Índice	viii
Índice de Figuras	x
Índice de Tabelas	xiii
Enquadramento e Objetivos	1
1. Revisão Bibliográfica	3
1.1. Biorrefinaria.....	3
1.2. Compostos extratáveis da biomassa de eucalipto	6
1.3. Extração sólido-líquido de biomassa de eucalipto.....	9
2. Materiais e Métodos	11
2.1. Reagentes e materiais.....	11
2.2. Matérias-primas vegetais	11
2.3. Extração sólido-líquido.....	12
2.4. Caracterização de extratos	14
2.4.1. Cromatografia em fase gasosa acoplada a um espectrómetro de massa (GC-MS)	14
2.4.2. Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (FTIR-ATR).....	15
2.5. Medição da humidade do solvente.....	16
2.6. Planeamento fatorial de experiências.....	16
2.7. Projeto e simulação de um processo industrial de extração.....	17
2.8. Análise tecno-económica	17
3. Resultados Experimentais e Discussão	19
3.1. Ensaio preliminares	19
3.1.1. Caracterização das matérias-primas	19
3.1.2. Seleção do solvente de extração.....	22

3.1.3. Humidade do solvente e biomassa	24
3.1.4. Extrações sólido-líquido em série	26
3.1.5. Tempo de extração e rácios solvente/biomassa.....	27
3.2. Otimização experimental	29
3.3. Ensaio Pós-otimização	35
3.3.1. Refinamento das condições de operação.....	35
3.3.2. Estimativa do tempo de extração sólido-líquido ótimo.....	36
3.4. Projeto e simulação de uma unidade industrial de extração	37
3.5. Análise tecno-económica	40
3.5.1. Análise de sensibilidade: impacto da reutilização de solvente com humidade no COM.....	43
4. Conclusões e Trabalho Futuro.....	47
5. Bibliografia.....	49
6. Anexos.....	a
6.1. Ensaio preliminares	a
6.2. Composição dos extratos obtidos na otimização experimental	b
6.3 Dimensionamento do permutador de calor para o caso com recuperação do solvente d	

Índice de Figuras

Figura 1 Modelo de uma economia baseada em matérias-primas renováveis. Retirado de [2]	3
Figura 2 Evolução do consumo de biocombustíveis por fonte de energia. Retirado de [6]..	4
Figura 3 Evolução da produção e consumo de eletricidade pela indústria de pasta e papel. Retirado de [6].....	5
Figura 4 Esquema de aproveitamento industrial de resíduos de eucalipto numa fábrica de pasta e papel	6
Figura 5 Principais ácidos triterpénicos que ocorrem na biomassa de eucalipto: betulínico, betulónico, ursólico e oleanólico e as suas formas acetiladas. Retirado de[17].....	7
Figura 6 Amostra de biomassa industrial de Eucalyptus globulus fornecida por The Navigator Company.....	9
Figura 7 Diagrama simplificado de um processo industrial típico de extração sólido-líquido. (1,3,7,10,12) Permutador de calor, (2,9,11) Bombas, (4) Secagem, (5) Moagem, (6) Extrator, (8) Coluna de destilação. Retirado de [30]	10
Figura 8 Amostras em estudo. (A) biomassa industrial de eucalipto, (B) casca industrial de eucalipto	11
Figura 9Montagem laboratorial para: (a) extração sólido-líquido em descontínuo e (b) Soxhlet.....	13
Figura 10 Extração em contínuo. (a) solvente fresco, (b) bombas, (c) extrator e (d) vaso de recolha do extrato.	13
Figura 11Rendimento total para a extração Soxhlet, com dois solventes (metanol e diclorometano) e duas matérias-primas (casca e biomassa de eucalipto)	21
Figura 12Rendimento em ácidos triterpénicos para a extração Soxhlet, com dois solventes (metanol e diclorometano) e duas matérias-primas (casca e biomassa de eucalipto)	21
Figura 13 FTIR-ATR de extratos obtidos por extração Soxhlet de casca de eucalipto, com diclorometano e metanol	22
Figura 14Rendimento total de extração (TTY) e rendimento em ácidos triterpénicos (TTAY), obtidos por extração sólido-líquido de biomassa industrial durante 24 h, à temperatura ambiente, e com agitação moderada. Resultados apresentados em relação ao rendimento por Soxhlet	23

Figura 15 Percentagem de água removida pelo metanol da biomassa vegetal (temperatura ambiente, $t = 24$ h, $R = 6.7$ mL/g de metanol).....	24
Figura 16(A) Rendimento total de extração (TTY) para biomassa com humidade natural e seca, durante 48 horas; (B) Rendimento em ácidos triterpénicos (TTAY) para extração com biomassa com humidade natural e seca.....	25
Figura 17 Resultados de rendimento total para extração sólido-líquido segundo três modos de operação: (A) 24 h solvente fresco + 24 h solvente fresco; (B) 48 h com uma carga única de solvente; (C) 24 h com uma carga única de solvente. Condições de extração: temperatura ambiente, $R = 6.7$ mL/g, agitação moderada, com metanol.	27
Figura 18 Curvas de extração batch (rendimento total em função do tempo) para dois rácios de solvente/biomassa diferentes, 5 e 10mL/g, à temperatura ambiente. Dentro do retângulo encontra-se a gama de tempos de interesse para a otimização experimental.	29
Figura 19 Gráficos de Pareto para as quatro respostas estudadas: A) rendimento total (TTY), B) rendimento em ácidos triterpénicos (TTAY), C) concentração de ácidos triterpénicos (TTAC) e D) velocidade de extração (V_{Ex}).	34
Figura 20 Superfícies de resposta em função dos fatores não codificados para: (A) rendimento total, (B) rendimento em ácidos triterpénicos, (C) concentração de ácidos triterpénicos e (D) velocidade de extração com os respetivos pontos experimentais obtidos	35
Figura 21 Rendimento total de extração (TTY) em função do rácio de solvente/biomassa, para um tempo de extração constante, de 0.5 h.....	36
Figura 22 Determinação do tempo ótimo de extração para o rácio solvente/biomassa de 5 mL/g e 7.5mL/g.....	37
Figura 23 Diagrama proposto para um processo comercial de extração de biomassa industrial.....	38
Figura 24 Percentagem de cada parcela no COM, para o caso com recuperação de solvente da biomassa	43
Figura 25 Rendimento total de extração em função da fração volumétrica de água no solvente, para um rácio solvente/biomassa de 5 mL/g e um tempo de extração de 0.5 h ...	45
Figura 26 Diagrama de fluxo proposto para um processo com reutilização do solvente entre passos de extração consecutivos, onde o solvente após a evaporação é condensado e armazenado para uma nova passagem.....	45

Figura 27 Custo de produção em função do número de passagens do solvente pela biomassa	46
Figura 28 Rendimento total em extração batch, para um tempo de extração de 24 horas e rácio de 1g/6.7mL.....	a
Figura 29 Rendimento total em ácidos triterpénicos e concentração de ácidos triterpénicos no extrato obtido, para extração batch durante 24 horas e rácio de 1g/6.7mL.....	a

Índice de Tabelas

Tabela 1 Aplicações dos bioblocks: lenhina e sugar syrups, na produção de novos compostos	5
Tabela 2 Presença dos diferentes ácidos triterpénicos nas frações morfológicas do <i>Eucalyptus globulus</i> . Resultados em % mássica ($m_{\text{composto}}/m_{\text{extrato}}$). Retirado de [17]	8
Tabela 3 Codificação e níveis de correspondência dos fatores independentes em estudo ..	30
Tabela 4 Resultados experimentais obtidos para a otimização experimental realizada	31
Tabela 5 Necessidade de biomassa industrial a extrair em cada um dos cenários de produção considerados.	39
Tabela 6 Necessidades de utilidades do processo de extração, nos dois cenários de produção considerados.	40
Tabela 7 Lista de pressupostos para análise económica e cálculo do custo de produção ...	41
Tabela 8 Custo de produção do extrato, em €/kg, para os dois rácios estudados, com e sem recuperação de solvente impregnando na biomassa no fim de cada extração.....	42
Tabela 9 Caudal de biomassa processada e massa de extrato produzido considerando diferentes números de passagens de solvente, para uma base de	46
Tabela 10 Composição dos extratos obtidos, em ácidos triterpénicos, para os ensaios realizados na otimização experimental, em mg/kg.....	b

Nomenclatura

TTY	Rendimento total (% mássica)
$TTAY$	Rendimento total em ácidos triterpénicos (% mássica)
$TTAC$	Concentração de ácidos triterpénicos no extrato (% mássica)
VEx	Velocidade de extração (%/h)
$A_{amostra}$	Área do pico do composto no cromatograma (-)
$m_{amostra}$	Massa de amostra injetada no cromatógrafo (g)
$A_{padrão}$	Área do padrão interno no cromatograma (-)
$m_{padrão}$	Massa de padrão interno injetada no cromatógrafo (g)
$F_{resposta}$	Fator de resposta (-)
R	Rácio entre o volume de solvente e massa de amostra (mL/g)
t	Tempo de extração (h)
MO	Modo de operação da extração (-)
$m_{extrato}$	Massa de extrato obtida (g)
COM	Custo de produção (€/ano)
FCI	Custos Fixos de capital (€/ano)
COL	Custos do trabalho (€/ano)
CUT	Custo de utilidades (€/ano)
CWT	Custo de tratamento de resíduos (€/ano)
CRM	Custo da matéria-prima (€/ano)

Enquadramento e Objetivos

A indústria de pasta e papel gera anualmente uma quantidade significativa de subprodutos vegetais, sendo que a grande maioria destes é utilizada apenas na produção de energia elétrica e vapor.

O conceito de biorrefinaria ganha atualmente um papel importante na indústria, uma vez que esta pretende aproveitar ao máximo as suas matérias-primas e subprodutos, principalmente através da disponibilização de produtos de elevado valor acrescentado, tornando os seus processos mais eficientes e *verdes*, ao mesmo tempo que a quantidade de resíduos e reagentes químicos é reduzida. Nesta ótica, o tema desta tese de mestrado “Extração de biomassa industrial de *Eucalyptus globulus*” surge como uma tentativa de aferir a viabilidade de um processo industrial de extração, que permita a valorização de biomassa vegetal de eucalipto, por via da produção de extratos naturais ricos em compostos bioativos.

Os principais objetivos desta tese de mestrado são:

- Caracterização das matérias-primas fornecidas pelo *The Navigator Company* (casca e biomassa industrial) e pesquisa de solventes e condições de extração com maior potencial para a obtenção de um extrato enriquecido em ácidos triterpénicos.
- Determinação das condições de extração ótimas que permitem maximizar os rendimentos de extração do processo, bem como a produtividade do mesmo.
- Projeto e simulação de uma unidade industrial de produção de extratos de eucalipto.
- Análise económica preliminar do processo, com vista à determinação dos custos de produção para vários cenários industriais.

A tese compreende um total de 5 capítulos. O primeiro capítulo contém uma pequena introdução aos conceitos de biorrefinaria associados à indústria de pasta e papel, bem como uma introdução aos compostos extratáveis, em particular os ácidos triterpénicos. São ainda abordadas técnicas de extração relevantes para a matéria-prima em estudo.

No Capítulo 2 faz-se uma descrição dos materiais e métodos experimentais utilizados no decorrer de todo o trabalho experimental, incluindo técnicas de caracterização de extratos, desenho fatorial de experiências e análise técnico-económica.

No Capítulo 3 apresentam-se os resultados experimentais obtidos, tendo-se iniciado com a caracterização das matérias-primas, biomassa e casca industrial, ambos subprodutos da

indústria de pasta e papel. De seguida são apresentados os resultados referentes à otimização experimental realizada, para determinar condições ótimas de extração. Na parte final do capítulo discutem-se os resultados referentes à análise tecno-económica realizada. Nos Capítulos 4 e 5 deste trabalho são reportadas as principais conclusões e a bibliografia, respetivamente.

1. Revisão Bibliográfica

1.1. Biorrefinaria

Nos últimos anos, a indústria e a população ocidental em geral assistiram a uma mudança do paradigma ambiental, visando diminuir o consumo de produtos derivados de fontes fósseis e aumentado a procura de produtos de origem renovável.

A indústria transformadora viu nesta mudança uma oportunidade para se modernizar, apostando em inovações do seu processo produtivo, de forma não só a recentrar os seus processos em matérias-primas renováveis, mas também a garantir a sustentabilidade financeira a médio e longo prazos como fator determinante na adoção de processos verdes. Com esta mudança de paradigma surge o conceito de biorrefinaria, como uma forma de melhorar o aproveitamento dos recursos naturais, utilizando-os na produção de produtos químicos, combustíveis, energia e novos materiais [1]. A biorrefinaria, como podemos constatar pela Figura 1, é a base de uma bioeconomia assente na produção de bioenergia, biocombustíveis e bioprodutos, gerados a partir de biomassa natural, nomeadamente de natureza animal e vegetal [2].

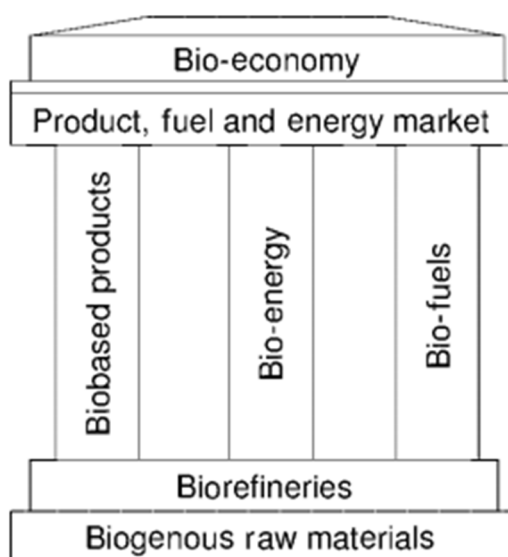


Figura 1 Modelo de uma economia baseada em matérias-primas renováveis. Retirado de [2]

Para além da possibilidade de se apostar em novas fábricas para o aproveitamento total da biomassa vegetal, o investimento pode também ser realizado através da instalação e operação de unidades adjacentes a processos industriais já existentes, de forma a aproveitar

os subprodutos e/ou resíduos naturais já disponíveis, bem como o equipamento industrial e toda a logística processual envolvida [2,3].

A nível Europeu tem sido realizado um esforço conjunto para concretizar uma transição gradual de uma economia baseada em recursos fósseis para uma economia baseada em produtos de fontes renováveis, sendo possível referir como exemplo a integração de biocombustíveis nos combustíveis disponibilizados aos consumidores ou a melhoria da eficiência energética das indústrias através do aproveitamento dos seus resíduos, entre outras medidas [4,5].

A nível industrial existem duas vias para a integração de biorrefinarias no processo produtivo: na produção de energia e vapor ou na obtenção de *bioblocks*.

Algumas indústrias, tais como a indústria de pasta e papel, têm investido na integração do conceito de biorrefinaria no seu processo produtivo, principalmente para a produção de energia elétrica e vapor.

No caso da produção de pasta de papel pelo método *kraft*, há duas formas de aproveitamento de energia: por combustão dos compostos orgânicos presentes no licor negro[5]e por combustão dos subprodutos gerados na preparação da biomassa.

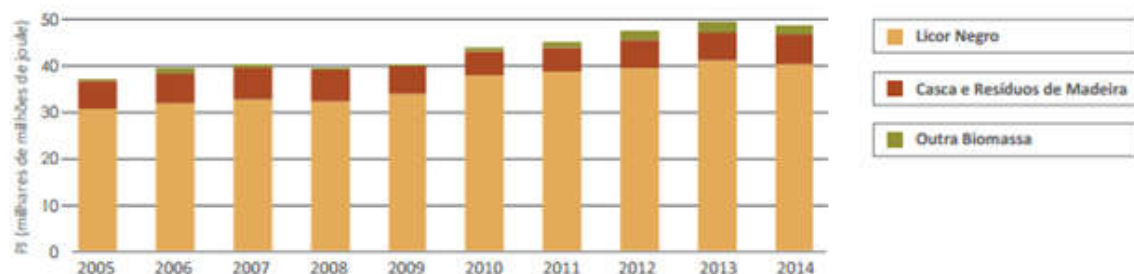


Figura 2 Evolução do consumo de biocombustíveis por fonte de energia. Retirado de [6]

A indústria de pasta e papel viu, entre 2005 e 2014, aumentar a produção de energia com recurso a combustíveis fósseis dos 15petajoule (PJ) até cerca dos 20PJ [6]. No mesmo período, como mostra a Figura 2, a produção de energia com recurso a biocombustíveis cresceu de cerca de 35PJ para cerca dos 50PJ. Esta evolução permite à indústria de pasta e papel manter um superavit de energia, ou seja, produz mais energia elétrica do que a que é consumida nas suas instalações, como se verifica na Figura 3.

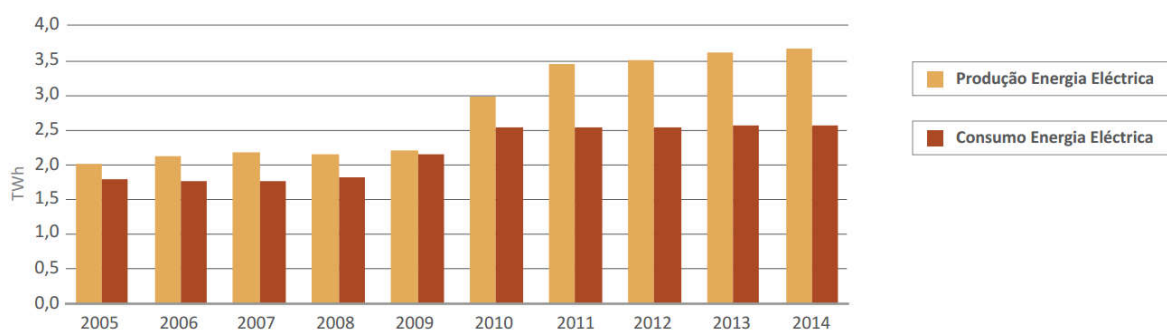


Figura 3 Evolução da produção e consumo de eletricidade pela indústria de pasta e papel. Retirado de [6]

É ainda possível, na indústria de pasta e papel, a integração do conceito de biorrefinaria através da produção de compostos químicos de base, ou seja, compostos designados por *bioblocks* e que são precursores de compostos químicos mais complexos, como os exemplos fornecidos na Tabela 1. Esta integração está no entanto muito dependente da evolução do preço do petróleo, uma vez que o seu aumento leva a que processos alternativos baseados em fontes renováveis se tornem mais atrativos a nível económico [3].

Tabela 1 Aplicações dos *bioblocks*: lenhina e *sugar syrups*, na produção de novos compostos

<i>Bioblocks</i>	Aplicações	Referências
Lenhina	Colas de lenhina	[7]
	Espumas de poliuretano	[8]
	Vanilina e seringaldeído	[9]
<i>Sugar syrups</i>	Bioetanol e ácido láctico	[10]
	Polihidroxialcanatos(PHA)	[11]
	Celulose bacteriana	[12]

Todos os compostos apresentados na Tabela 1 assistiram a um aumento de pesquisa, principalmente na sua produção por vias alternativas, ou seja, com recurso a *bioblocks*. Estes compostos têm assistido a um aumento de procura, sendo exemplos: o bioetanol e o ácido láctico têm sido progressivamente mais procurados [13], o desenvolvimento de novas aplicações para os polihidroxialcanoatos (PHA) [11], celulose bacteriana [14,15] e lenhina [7,8].

1.2. Compostos extratáveis da biomassa de eucalipto

Em Portugal existe uma forte aposta no aproveitamento sustentável dos recursos naturais, em especial dos recursos florestais, mais concretamente do eucalipto, a principal matéria-prima para a indústria de pasta e papel [6]. Com uma área total plantada de eucalipto de 812 mil hectares [16], estima-se que cada fábrica de tamanho médio da indústria portuguesa de pasta e papel gere 1×10^5 ton/ano de casca de eucalipto (subproduto) por cada 5×10^5 ton/ano de pasta de papel produzida [17]. Atualmente este subproduto é aproveitado na produção de energia e utilidades, como podemos ver na Figura 4 (A). No entanto, a mesma casca pode ser valorizada imediatamente antes de ser alimentada à caldeira, através da implementação de um processo de extração, o qual permitirá originar um novo produto, o extrato natural de biomassa de eucalipto, como se demonstra na mesma figura, Figura 4 (B).

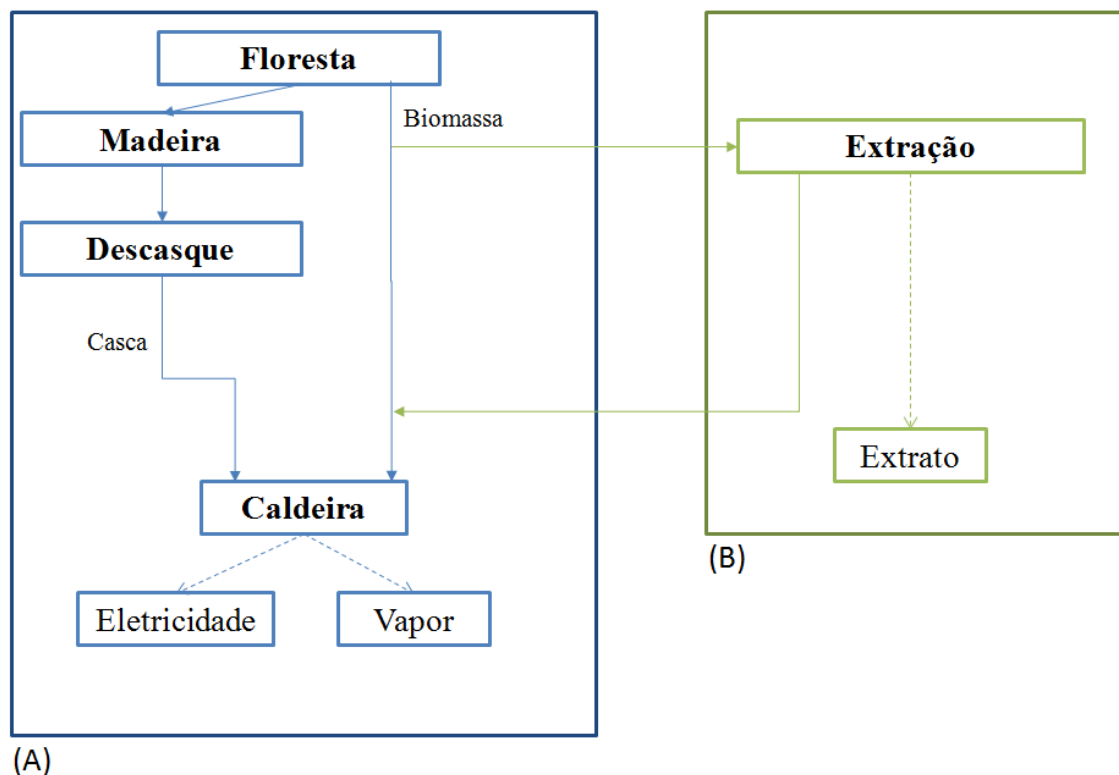


Figura 4 Esquema de aproveitamento industrial de resíduos de eucalipto numa fábrica de pasta e papel

A principal fonte de matéria prima na indústria de pasta e papel portuguesa é a madeira de eucalipto, mais concretamente de *Eucalyptus globulus*, uma vez que esta madeira permite produzir uma pasta de elevada qualidade, com excelentes propriedades óticas e mecânicas [18]. O presente estudo terá por base esta matéria-prima, a qual tem sido abundantemente

investigada nos últimos anos na perspectiva dos compostos extratáveis [19–23], o que permite uma caracterização não só das especificidades desta espécie a nível morfológico, mas também ao nível dos compostos químicos passíveis de extração.

A biomassa de *E.globulus* é principalmente constituída por celulose, cerca de 51% da sua massa total, existindo, no entanto, outros compostos relevantes tais como: polissacarídeos (26%), lenhina (22%) e extratáveis (1%) [24].

Os extratáveis, apesar de ocorrerem em quantidades minoritárias na biomassa de eucalipto, exibem tipicamente propriedades bioativas, o que os tornam potencialmente interessantes em aplicações industriais diversas. Destes fazem parte os ácidos betulínico, betulónico, ursólico e oleanólico (Figura 5), globalmente designados por ácidos triterpénicos, que são considerados compostos com potencial para aplicações em áreas como farmacêutica, nutracêutica e alimentos funcionais [25], devido às suas propriedades anti-tumorais e anti-inflamatórias, propriedades anti-microbianas, baixa toxicidade, entre outras [26]. Para além dos ácidos triterpénicos, existe uma gama variada de compostos que podem ser extraídos a partir da madeira do *E. globulus*, tais como ceras, ácidos alifáticos de cadeia longa ou álcoois. Um dos grandes grupos de extratáveis neste tipo de madeira são os compostos fenólicos, nomeadamente os taninos e flavonóides [24], sobre os quais se sabe terem funções antioxidantes [27].

Os ácidos triterpénicos referidos podem ser encontrados em várias partes de diversas espécies vegetais, estando presentes em maior concentração na casca externa, ramos, folhas e frutos [25], intervindo em processos biológicos da planta tais como a polinização, proteção ou crescimento [28].

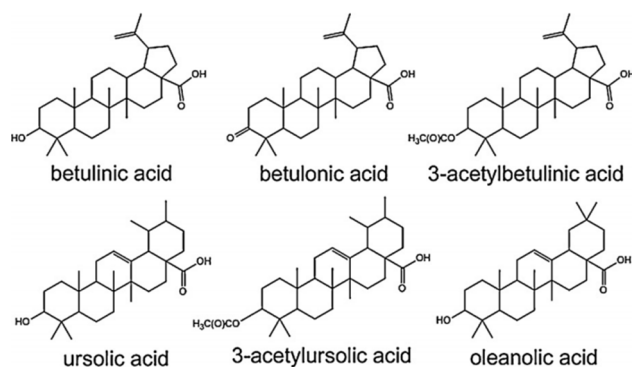


Figura 5 Principais ácidos triterpénicos que ocorrem na biomassa de eucalipto: betulínico, betulónico, ursólico e oleanólico e as suas formas acetiladas. Retirado de [17]

Tabela 2 Presença dos diferentes ácidos triterpênicos nas frações morfológicas do *Eucalyptus globulus*. Resultados em % mássica ($m_{\text{composto}}/m_{\text{extrato}}$). Retirado de [17]

Composto	Frutos	Folhas Adultas	Casca do tronco	Casca de descasque	Casca superficial dos ramos
Ácido betulónico	0.010	0.019	0.017	0.053	1.152
Ácido Oleanólico	0.016	0.080	0.036	0.102	1.875
Ácido betulínico	0.018	0.019	0.028	0.059	0.811
Ácido ursólico	0.050	0.202	0.093	0.253	5.567
Ácido 3-acetilbetulínico	0.001	-	0.000	-	0.086
Ácido 3-acetilursólico	0.001	0.017	0.072	0.244	0.483
<i>TTY</i> (% m/m)	0.095	0.336	0.248	0.710	9.973
<i>TTY</i> (% m/m)	0.2	0.9	0.9	2.1	18.1

TTY – rendimento em ácidos triterpênicos

TTY – rendimento total de extração

O rendimento total de extração sólido-líquido da madeira de *E. globulus* com solventes orgânicos pode variar em função da fração morfológica da planta, podendo ser de 0.9 %(m/m) em folhas adultas, enquanto que a casca superficial dos ramos permite obter rendimentos de 18.1 %(m/m) [17]. A quantidade de ácidos triterpênicos que é possível extrair também varia consoante a fração morfológica da planta, como demonstrado na Tabela 2, sendo que a diferença de rendimento em ácidos triterpênicos pode variar entre os 0.095 %(m/m) e os 9.973 %(m/m), nos frutos e na casca superficial dos ramos, respetivamente.

Os dados apresentados têm particular relevância quando se lida com biomassa industrial (ver Figura 6) uma vez que esta é uma mistura de todas as frações morfológicas do

eucalipto (folhas, frutos, casca e madeira), podendo conter também inertes. A biomassa industrial é particularmente interessante a nível industrial uma vez que esta existe em quantidades superiores à da casca de eucalipto, ou seja, em abundâncias superiores a 1 ton por 5 ton de pasta produzida.



Figura 6 Amostra de biomassa industrial de *Eucalyptus globulus* fornecida por *The Navigator Company*

1.3. Extração sólido-líquido de biomassa de eucalipto

Para a obtenção de compostos extratáveis duma matriz sólida, podem ser utilizados diferentes métodos de extração. O mais conhecido e utilizado industrialmente é a extração sólido-líquido [2] com solventes orgânicos, nomeadamente diclorometano [29], metanol [29] e *n*-hexano [30]. Outro processo que se encontra atualmente em rápida expansão em processos de extração de matrizes vegetais é a extração com dióxido de carbono supercrítico, devido à sustentabilidade do processo, uma vez que utiliza solventes *verdes* [31], bem como a facilidade em separar o solvente do extrato [26].

Industrialmente a extração sólido-líquido com solventes orgânicos pode dividir-se em 3 etapas: extração propriamente dita, recuperação do extrato e purificação. A Figura 7 ilustra um diagrama de processo típico para uma unidade de extração sólido-líquido. A etapa de extração tem como principal equipamento o extrator, equipamento onde se deposita a matéria-prima sólida, moída ou não. Após o carregamento do extrator, inicia-se o processo de extração, onde o solvente orgânico líquido contacta com a matéria-prima vegetal. Este passo ocorre tipicamente a pressões próximas da atmosférica e a temperaturas usualmente não superiores a 100°C. O tempo de extração ideal, estando dependente de diversos fatores, é normalmente um compromisso entre um aumento do rendimento total e garantia de uma velocidade de extração elevada. Concluída a etapa de extração, a recuperação do solvente é

realizada normalmente por destilação, obtendo-se o extrato separado. A etapa de purificação é muitas vezes opcional, uma vez que, dependendo dos casos, se pode considerar que o extrato global final já se encontra na forma pretendida. No entanto, se o objetivo final for obter um composto e/ou família de compostos purificados, etapas de purificação devem ser consideradas [2], não sendo este o caso do processo representado na Figura 7.

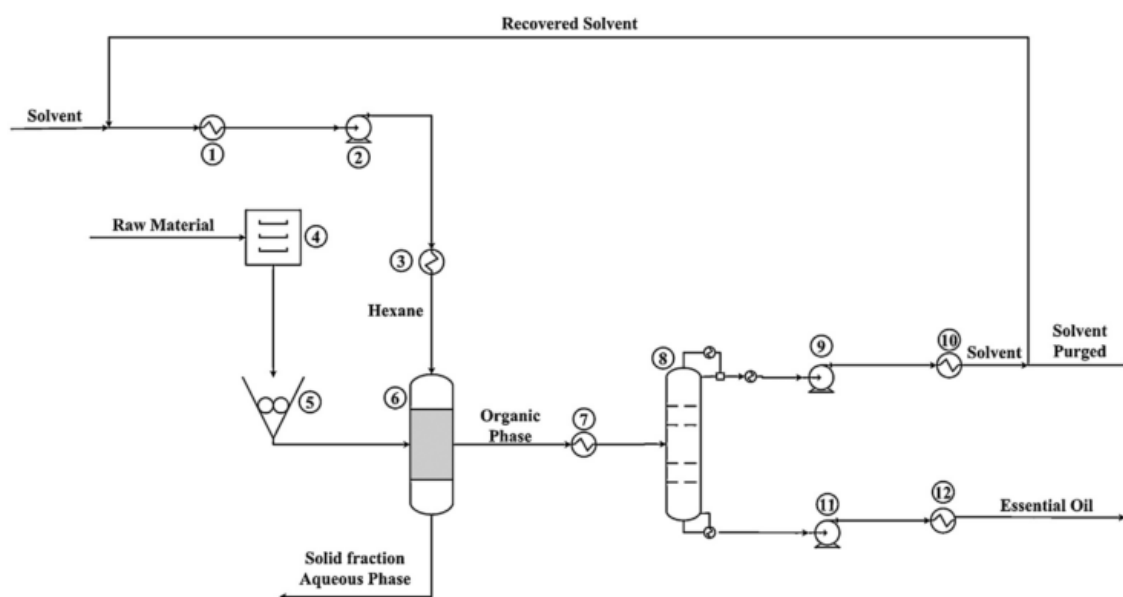


Figura 7 Diagrama simplificado de um processo industrial típico de extração sólido-líquido. (1,3,7,10,12) Permutador de calor, (2,9,11) Bombas, (4) Secagem, (5) Moagem, (6) Extrator, (8) Coluna de destilação. Retirado de [30]

Alternativamente, o processo com recurso a fluidos supercrítico, nomeadamente dióxido carbono, compreende algumas diferenças estruturais face à extração sólido-líquido com solvente orgânico: a etapa de extração ocorre, tipicamente, a pressões entre 100 e 400 bar, e temperaturas entre 40 e 60°C [31]. A etapa de recuperação do extrato é simplificada, consistindo apenas na descompressão do fluido supercrítico, o que permite uma separação imediata do solvente e do extrato. Este processo tem sido amplamente investigado nos últimos anos no âmbito da biorrefinaria, mas ainda não atingiu a maturidade industrial da extração sólido-líquido. Outra técnica de extração utilizada é a extração líquida de alta pressão e alta temperatura, que consiste em aumentar a temperatura do solvente, de forma a melhorar as propriedades extrativas deste, e aumentar a pressão do sistema para que, à temperatura de extração, o solvente permaneça em estado líquido [32].

2. Materiais e Métodos

2.1. Reagentes e materiais

Nas etapas de extração sólido-líquido os solventes utilizados foram: diclorometano (Fisher Chemical, pureza 99,99%) e metanol (VWR chemical, pureza 99,9%). Na preparação dos extratos para análise por cromatografia em fase gasosa os reagentes utilizados foram: piridina (Sigma-Aldrich, pureza 99,5%), tetracosano (Aldrich, pureza 99%), N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (Sigma Aldrich, pureza >99%) e clorotrimetilsilano (Sigma Aldrich, pureza >99%).

Para a calibração da resposta do cromatógrafo utilizaram-se amostras de três ácidos triterpênicos: ácido ursólico (Aktin Chemicals, Inc., pureza 98%), ácido betulínico (Aktin Chemicals, Inc., pureza 98%) e ácido oleanólico (Aktin Chemicals, Inc., pureza 98%).

2.2. Matérias-primas vegetais

As amostras em estudo são, biomassa industrial e casca de eucalipto provenientes da fábrica de pasta e papel da *The Navigator Company*, Cacia, Aveiro, tendo sido estudadas amostras com humidade natural, com valores entre os 35% e 44% em massa.

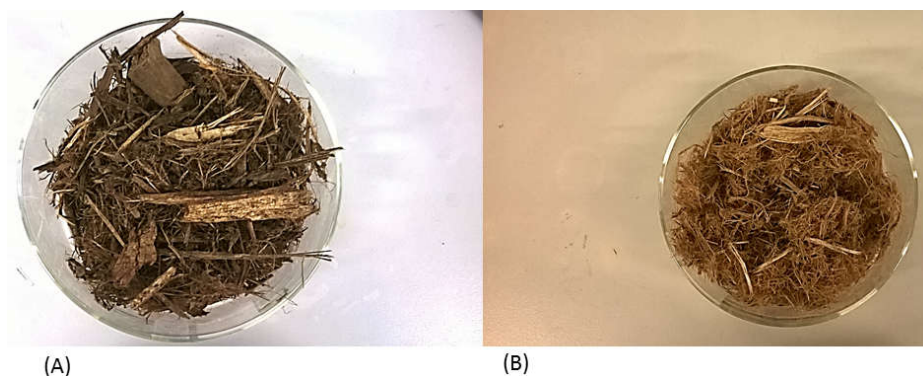


Figura 8 Amostras em estudo. (A) biomassa industrial de eucalipto, (B) casca industrial de eucalipto

As amostras utilizadas não apresentam uma granulometria uniforme, variando o tamanho no caso da biomassa industrial, Figura 8 (A), desde partículas muito irregulares com tamanho inferior a 1 cm a ramos e folhas com cerca de 5cm. Os resíduos de casca, Figura 8 (B), apresentam uma granulometria mais regular, sendo constituídos principalmente por fibras com tamanhos na ordem dos 5cm. Ambas as amostras foram compactadas de forma a terem uma densidade aparente semelhante, de 0.24 g/mL.

As amostras foram consideradas com duas humidades: humidade natural (25-45% (m/m)) e seco (\approx 5%). A matéria-prima com humidade natural foi colocada num recipiente hermético que permitisse manter a humidade das amostras aproximadamente constante ao longo de todos os ensaios. Para a obtenção da matéria-prima seca, esta foi colocada numa tina e deixada na estufa (Scientific Series 2000) durante 48 horas a uma temperatura de 60 °C.

2.3. Extração sólido-líquido

No decorrer deste trabalho foram utilizadas três metodologias de extração sólido-líquido: Soxhlet, *batch* à temperatura ambiente, e operação em semi-contínuo, utilizando como solventes metanol e diclorometano.

A extração *batch*, Figura 9, foi realizada num agitador orbital (Orbital Incubator Neifo), à pressão e temperatura ambientes (25°C e 1 bar) com todas as experiências em idênticas condições de agitação (750 rpm). Os seguintes rácios solvente/biomassa foram usados: 5 mL/g, 6.7 mL/g, 7.5 mL/g e 10 mL/g. Foi utilizado um erlenmeyer de 250 mL.

A extração Soxhlet foi realizada num extrator de 200 mL onde se colocaram cerca de 40 g de amostra num cartucho. No balão de recolha, em contacto com a manta de aquecimento, introduziram-se 400 mL de solvente, cerca do dobro da capacidade do extrator. O equipamento foi deixado a operar durante 7 horas.

A extração em semi-contínuo, cuja instalação se mostra na Figura 10, foi executada da seguinte forma: a biomassa foi pesada e colocada no extrator, e introduziu-se no extrator 40% do volume total de solvente previsto para a experiência (copos de 400 mL), sendo os restantes 60% alimentados ao extrator continuamente, com um caudal constante (o necessário para se consumir 100% do volume de solvente no tempo previsto da experiência). Um caudal idêntico ao de alimentação foi usado para remover o extrato do interior do vaso, de modo a que o volume absoluto de líquido no seu interior permanecesse constante (40 % do volume total).

Após o final de qualquer um dos três tipos de extração, o extrato resultante foi filtrado e seco usando um evaporador rotativo (Heidolph WB 2000) a 40°C. O extrato seco foi seguidamente redissolvido em diclorometano e colocado em porta amostras, tendo-se depois secado em estufa (Venticell) a 50°C durante 24 horas até não se observarem diferenças de massa.



Figura 9 Montagem laboratorial para: (a) extração sólido-líquido em descontínuo e (b) Soxhlet

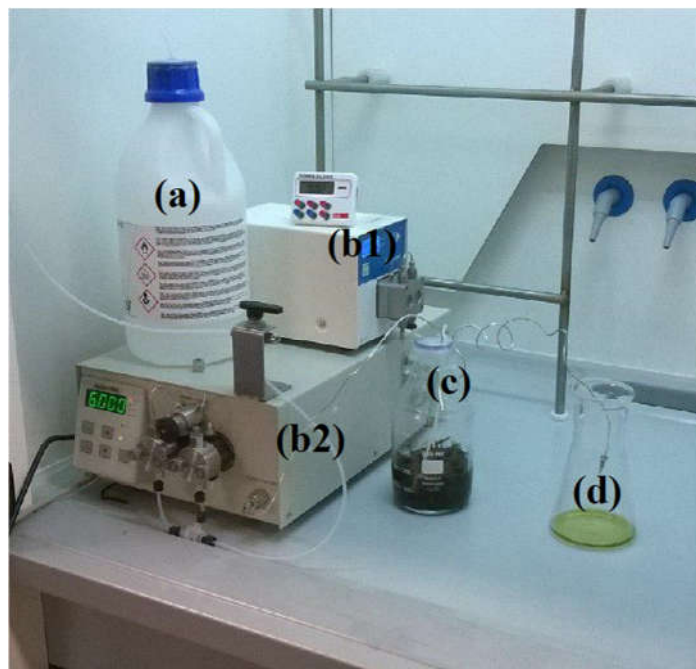


Figura 10 Extração em contínuo. (a) solvente fresco, (b) bombas, (c) extrator e (d) vaso de recolha do extrato.

As respostas avaliadas nas extrações sólido-líquido realizadas são: o rendimento total (*TTY*), o rendimento total em ácidos triterpénicos (*TTAY*) e a concentração de ácidos triterpénicos no extrato final (*TTAC*), que podem ser definidas como:

$$TTY (\%) = \frac{m_{\text{extrato}}}{m_{\text{amostra seca}}} \times 100 \quad (1)$$

$$TTAY (\%) = \frac{m_{\text{ácidos triterpénicos}}}{m_{\text{amostra seca}}} \times 100 \quad (2)$$

$$TTAC (\%) = \frac{m_{\text{ácidos triterpénicos}}}{m_{\text{extrato}}} \times 100 \quad (3)$$

onde m_{extrato} é a massa de extrato secopesada (balança Precisa 125A), $m_{\text{amostra seca}}$ é a massa de amostra seca (biomassa ou casca industrial de eucalipto) usada no ensaio e $m_{\text{ácidos triterpénicos}}$ é a massa de ácidos triterpénicos obtida a partir da análise cromatográfica, tal como se explica na secção seguinte.

2.4. Caracterização de extratos

2.4.1. Cromatografia em fase gasosa acoplada a um espectrómetro de massa (GC-MS)

Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia em fase gasosa acoplada a um espectrómetro de massa (GC-MS). A análise cromatográfica realiza-se num equipamento que possui duas fases: uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária sólida ou líquida. A amostra é vaporizada e arrastada ao longo da coluna com recurso a um gás inerte, usualmente hélio, e é fracionada, tendo cada composto um tempo de residência no interior da coluna que é característico e depende de dois fatores: a sua pressão de vapor, e as interações que estabelece com a fase móvel [2]. À saída da coluna cromatográfica existe um detetor, neste caso um espectrómetro de massa, que permite uma mais eficaz capacidade de identificação dos compostos que atingem a saída da coluna [2].

As análises foram realizadas num cromatógrafo da marca Trace Gas Chromatograph 2000 Series equipado com um espectrómetro de massa Thermo Scientific DSQ II, com injeção automática, utilizando hélio como gás de arrasto. As condições de operação foram: temperatura inicial de 80°C durante 5 minutos, seguido de uma rampa de aquecimento à velocidade de 4 °C/min até se atingir a temperatura final de 285°C, que é mantida depois por 10 minutos.

Para cada injeção, prepararam-se cerca de 20mg de extrato, derivatizado de acordo com o procedimento da literatura [33,34], que envolve uma reação de substituição com N,O-bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida e clorotrimetilsilano. As amostras foram injetadas em triplicado e utilizou-se tetracosano como padrão interno.

Para a quantificação dos compostos detetados nos cromatogramas, podem ser utilizados dois métodos de análise: padrão interno e o padrão externo. No método do padrão interno é adicionado à amostra um composto com uma massa conhecida e que não se encontra presente na amostra inicial. Como a área do padrão interno ($A_{padrão}$) no cromatograma está relacionada com a sua massa ($m_{padrão}$), é possível relacionar separadamente a área de cada composto da amostra ($A_{amostra}$) com a sua massa ($m_{amostra}$) [35]. Para a utilização deste método é necessária uma calibração prévia, de forma a obter os fatores de multiplicação ($F_{resposta}$) que permitam obter uma correta quantificação dos picos presentes no cromatograma.

$$\frac{m_{amostra}}{m_{padrão}} = \frac{A_{amostra}}{A_{padrão}} \times F_{resposta} \quad (4)$$

Pelo método do padrão externo são realizadas injeções com amostras que contêm massas conhecidas do composto que desejamos quantificar, sendo depois possível ajustar uma reta colocando a massa de composto em função da sua área [35].

2.4.2. Espetroscopia de infravermelho por transformada de Fourier com reflexão total atenuada (FTIR-ATR)

A técnica qualitativa *Fourier transform infrared spectroscopy – Attenuated total reflection*, FTIR-ATR, mede a capacidade de uma amostra absorver luz a um determinado comprimento de onda [2]. Uma vez que cada ligação química absorve luz a um comprimento de onda característico, é possível através do espectro obtido, identificar as ligações químicas presentes na amostra. A utilização desta técnica tem particular interesse em estudos que recorrem a solventes com propriedades distintas, por exemplo, um solvente polar e outro apolar, uma vez que permite identificar os tipos de ligações presentes no extrato, sendo possível aferir, a partir desta informação geral, as famílias de compostos presentes em cada amostra [36].

A análise de FTIR-ATR foi realizada num equipamento Bruker tensor 27, que permite obter um espectro das ligações presentes à superfície da amostra. Os parâmetros chave da análise realizada são:

- Resolução: 4cm^{-1}
- Número de *scans*: 256 *scans*
- Número de onda: 4000cm^{-1} a 350cm^{-1}

Em termos de operação, o procedimento requer que se faça inicialmente uma análise de um branco para calibrar o equipamento, realizando-se de seguida a análise das amostras pretendidas.

2.5. Medição da humidade do solvente

Para a determinação da quantidade de água que o solvente remove da matéria-prima, realizaram-se ensaios em *batch*, tendo-se recolhido uma amostra do extrato e analisado por meio de uma titulação Karl-Fischer, com um medidor automático Metrohm KF 831.

A análise é realizada da seguinte forma: retira-se cerca de 0.1 mL de solução com uma seringa, e pesa-se o conjunto; a solução é injetada no equipamento, pesando-se de seguida a seringa vazia; o equipamento realiza a titulação automaticamente, devolvendo como resultado a massa de água existente no volume rigoroso injetado.

2.6. Planeamento fatorial de experiências

O desenho fatorial de experiências (DoE) é uma metodologia muito utilizada em ciências e engenharia, por permitir minimizar o número de experiências necessárias para obter conclusões sobre um processo ou um fenómeno. No caso específico da extração sólido-líquido, a determinação de condições ótimas de operação que permitam maximizar o rendimento do produto pretendido, reduzir o custo de desenvolvimento ou reduzir o custo de produção são exemplos de aplicação desta metodologia [37].

A maioria dos processos químicos podem ser descritos em termos de um conjunto de variáveis independentes [37], podendo estas ser muito variadas. No caso de processos de extração, estas variáveis podem ser quantitativas (tempo de extração, rácio de solvente/biomassa, granulometria, temperatura, etc.) ou qualitativas (modo de operação, etc.).

O planeamento fatorial de experiências requer, no entanto, um planeamento prévio para seleccionar as respostas (variáveis dependentes), escolher os fatores (variáveis independentes) e determinar as respetivas gamas de variação. Em função destes elementos definem-se então as respetivas matrizes de experiências.

A metodologia das superfícies de resposta, do inglês, *Response Surface Methodology* (RSM), é uma ferramenta de otimização que permite representar a resposta de uma

variável dependente em função de variáveis independentes (fatores), tipicamente com o objetivo de otimizar condições de algum processo ou equilíbrio[37].

A equação que é ajustada aos dados experimentais para modelar cada resposta estudada é tipicamente uma função polinomial de segundo grau, que integra efeitos lineares, quadráticos e interações binárias, tal como exemplificado em geral pela Equação (5), onde os parâmetros β_i são as constantes de ajuste do modelo, e as variáveis X_j são os fatores estudados.

$$\begin{aligned} Resposta = & \beta_i + \beta_{i+1}X_j + \beta_{i+2}X_{j+1} + \beta_{i+3}X_{j+2} + \beta_{i+4}X_jX_{j+1} + \beta_{i+5}X_jX_{j+2} \\ & + \beta_{i+6}X_{j+1}X_{j+2} + \beta_{i+7}X_j^2 + \beta_{i+8}X_{j+1}^2 + \beta_{i+9}X_{j+2}^2 \end{aligned} \quad (5)$$

Neste trabalho estudaram-se 4 variáveis dependentes: o rendimento total (*TTY*), o rendimento em ácidos triterpênicos (*TTAY*), a concentração de ácidos triterpênicos no extrato (*TTAC*), e a velocidade de extração (*VEx*). A análise foi realizada recorrendo ao software estatístico JMP, versão 8.

2.7. Projeto e simulação de um processo industrial de extração

Atendendo a que um dos objetivos do trabalho compreende o projeto e simulação de uma unidade industrial de extração de biomassa de eucalipto, esta tarefa foi realizada com o apoio do software Aspen Plus, versão 8.4. Desta forma tornou-se possível estimar os requisitos energéticos associados à bombagem, destilação do solvente e secagem do extrato num evaporador.

2.8. Análise tecno-económica

Para além da otimização de condições de operação, projeto e simulação do processo industrial de extração, procurou-se aferir também o custo de produção (vulgo custo de manufatura, *COM*), seguindo o procedimento de *Turton et al.* [38]. Esta abordagem tem sido amplamente usada no caso de extração supercrítica [39–42], mas também no caso de extração sólido-líquido com recurso a solventes orgânicos [30]. O *COM* pode ser estimado pela seguinte relação:

$$COM = 0.304FCI + 2.73COL + 1.23(CUT + CWT + CRM) \quad (6)$$

onde que *FCI* são os custos fixos de capital, *COL* o custo do trabalho, *CUT* o custo das utilidades, *CWT* o custo do tratamento de resíduos e *CRM* o custo da matéria-prima.

3. Resultados Experimentais e Discussão

3.1. Ensaios preliminares

O desafio de implementar um processo industrial de extração sólido-líquido competitivo implica que se aproveite de forma eficiente a matéria-prima disponível, o qual se traduz na necessidade de maximizar o rendimento global de extração, mas também o rendimento e concentração dos compostos de interesse nos extratos obtidos.

Para a maximização dos rendimentos, existe um vasto conjunto de variáveis e condições de operação que necessitam de ser fixadas, ou mesmo otimizadas. Do referido conjunto fazem parte os seguintes parâmetros:

- Tipo de matéria-prima (casca ou biomassa industrial de eucalipto);
- Tipo de solvente a usar (metanol ou diclorometano);
- Efeito da humidade da biomassa na redução do poder solvente (matéria-prima seca ou com humidade natural);
- Modo de operação do processo (*batch* ou semi-contínuo)
- Condições de extração (rácio solvente/biomassa, tempo de extração, etc)

Apesar de alguns dos referidos parâmetros serem interdependentes (por exemplo: efeito da humidade varia consoante o rácio solvente/biomassa), decidiu-se realizar um conjunto de experiências preliminares que permitissem identificar as variáveis mais importantes para uma subsequente otimização experimental.

3.1.1. Caracterização das matérias-primas

Com vista a caracterizar as duas matérias-primas vegetais disponíveis industrialmente, biomassa e casca, realizaram-se extrações Soxhlet para cada uma destas, usando metanol e diclorometano como solventes. De notar que os resultados obtidos através de Soxhlet foram posteriormente considerados neste trabalho como rendimentos máximos de referência que é possível obter por cada matéria-prima com cada um dos solventes considerados.

Os resultados obtidos para rendimento total (*TTY*) e rendimento em ácidos triterpénicos (*TTAY*) encontram-se representados nas Figura 11 e Figura 12, respetivamente. Por análise da Figura 11 verifica-se que é possível obter um rendimento superior quando se utiliza como matéria-prima a biomassa industrial, qualquer que seja o solvente utilizado. Mais

concretamente, no caso do metanol, o *TTY* para a casca e biomassa foi de 5.8% e 6.7%(m/m), respetivamente, o que representa uma vantagem de 15% na quantidade de extrato obtido, enquanto no caso do diclorometano o *TTY* obtido com casca foi 0.9% (m/m), sendo 4.0% (m/m) com biomassa, o que representa uma vantagem ainda mais pronunciada de cerca de 4.6 vezes. É ainda importante referir que as diferenças de rendimento, para o mesmo tipo de amostras, utilizando solventes distintos, pode ser explicada pela extração de diferentes compostos, como acontece com o metanol, que consegue extrair mais facilmente compostos fenólicos que o diclorometano, e se pode verificar pela análise da Figura 13, em que o extrato obtido com metanol apresenta uma maior absorvância para um número de onda próximo dos 3200 cm⁻¹, que corresponde a uma ligação O-H típica destes compostos.

Quando se comparam os valores obtidos neste trabalho com resultados existentes na literatura, verifica-se que o *TTY* obtido na extração Soxhlet da casca de eucalipto com diclorometano (*TTY* = 0.86% (m/m)) é concordante com o valor obtido por *Domingues et al.* para o mesmo sistema (*TTY* = 0.9% (m/m)) [17]. Além disso, observa-se ainda que o rendimento global de extração obtido para a biomassa (*TTY* = 6.7% (m/m)) se encontra entre o valor de rendimento obtido usando frutos (*TTY* = 0.2% (m/m)) e o valor de para casca dos ramos (*TTY* = 18.1% (m/m)) [17]. Tal observação é expectável já que a matéria-prima designada por biomassa é na prática uma mistura de diferentes componentes de eucalipto, incluindo a casca dos troncos, a casca dos ramos, folhas e frutos.

Uma vez que, neste trabalho, se procura a obtenção de um extrato rico em ácidos triterpénicos, é também importante analisar os rendimentos de extração nestes compostos (*TTY*) fornecidos na Figura 12. Verifica-se que, em relação ao uso de casca, a opção por biomassa como matéria-prima permite também um aumento muito significativo da remoção de ácidos triterpénicos, o qual varia em função do solvente: 200% superior caso se considere diclorometano e 33% maior com metanol. Em absoluto, a biomassa permite obter um *TTY* de 0.3% (m/m) com diclorometano e 0.4% (m/m) com metanol.

Este aumento do rendimento em ácidos triterpénicos quando se compara casca e biomassa pode ser explicado pelo facto de a biomassa, apesar de também conter uma porção de casca na sua composição, engloba outras partes do eucalipto, nomeadamente as folhas, que se sabe serem especialmente ricas em ácidos triterpénicos [17].

No geral, os resultados obtidos permitem concluir que:

- A matéria-prima biomassa industrial permite rendimentos totais (*TTY*) superiores aos obtidos com casca. Verifica-se igualmente que os rendimentos em ácidos triterpénicos são igualmente superiores quando se utiliza biomassa.
- A diferença de rendimento total entre casca e biomassa pode ser explicada, não tanto pela maior quantidade de ácidos triterpénicos extraída, mas sim por um aumento da quantidade de outros componentes solubilizados, tais como compostos fenólicos.

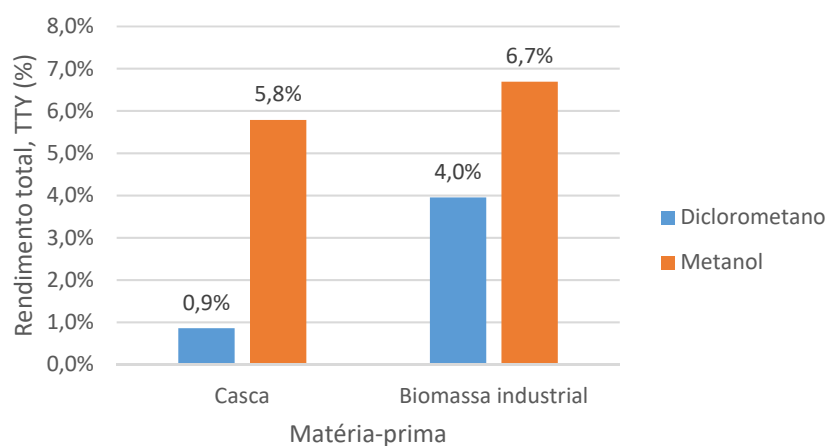


Figura 11 Rendimento total para a extração Soxhlet, com dois solventes (metanol e diclorometano) e duas matérias-primas (casca e biomassa de eucalipto)

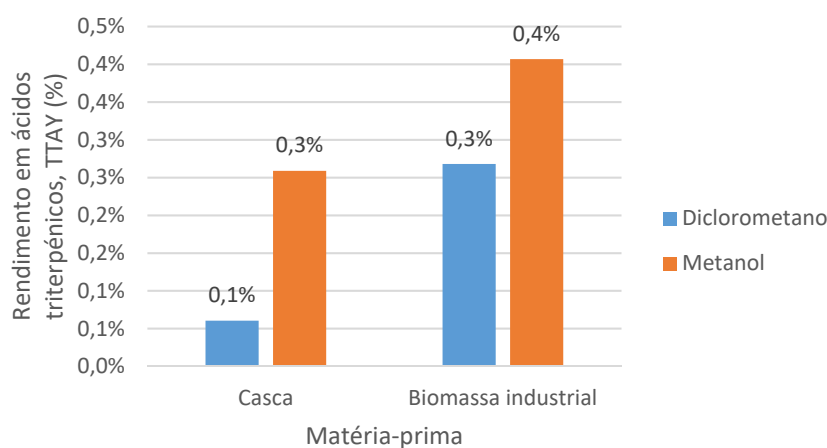


Figura 12 Rendimento em ácidos triterpénicos para a extração Soxhlet, com dois solventes (metanol e diclorometano) e duas matérias-primas (casca e biomassa de eucalipto)

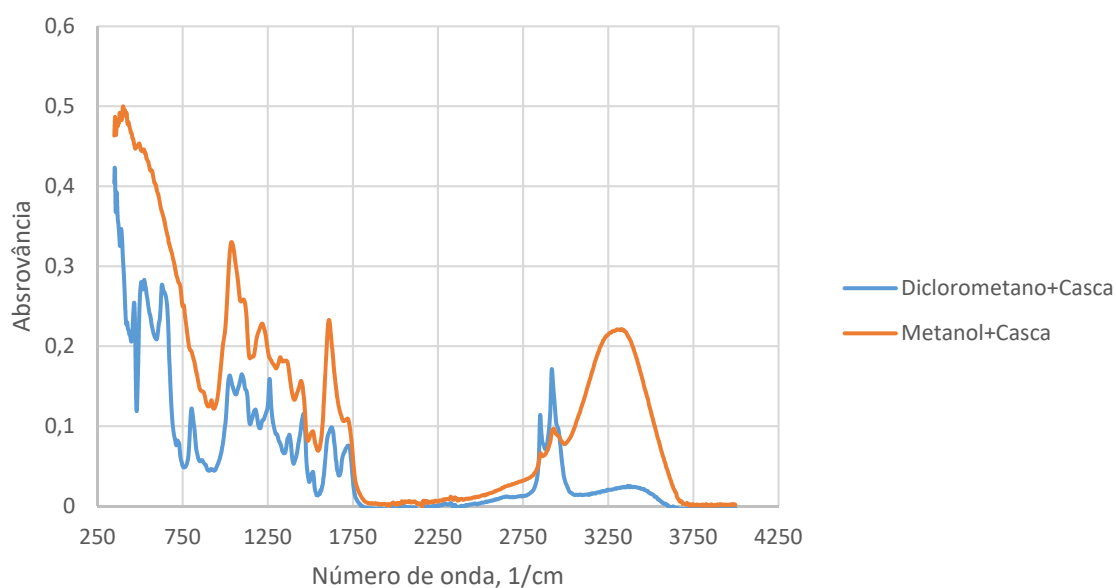


Figura 13 FTIR-ATR de extratos obtidos por extração Soxhlet de casca de eucalipto, com diclorometano e metanol

3.1.2. Seleção do solvente de extração

Tendo por base a clara vantagem do uso de biomassa industrial de eucalipto, realizou-se um estudo preliminar usando apenas esta matéria-prima, com o objetivo de determinar qual dos dois solventes pré-selecionados é mais vantajoso para a realização da extração em condições próximas do cenário industrial nomeadamente: i) extração em modo descontínuo; ii) utilização de um rácio solvente/biomassa entre 6 e 8 mL/g (nesta tese utilizou-se 6.7 mL/g)[43]; iii) temperatura ambiente, iv) agitação moderada do sistema. Em todo o caso, nos referidos ensaios definiu-se por excesso o tempo de extração (24 h) com vista a perceber o efeito dos solventes escolhidos nos rendimentos máximos obtidos para lá de eventuais limitações cinéticas.

Os resultados destes ensaios estão patentes na Figura 14, estando representados em percentagem de remoção relativa ao rendimento de extração Soxhlet. Por outras palavras, os valores apresentados no eixo vertical da referida figura indicam o que se consegue obter por extração sólido-líquido nas referidas condições em comparação com o que é possível extrair por Soxhlet.

Por análise da Figura 14 verifica-se que, nas novas condições de extração, e apesar de o tempo de extração ter sido definido por excesso, não foi possível esgotar completamente o

teor de extratáveis da matéria-prima. No entanto, quando se compara o rendimento total, o valor de *TTY* para diclorometano alcançou 73% do respectivo valor Soxhlet, enquanto que com o metanol apenas se consegue atingir cerca de 59.2 %. Em absoluto, o rendimento global de extração com diclorometano, situou-se nos 2.9% (m/m), enquanto que com metanol se obteve um valor cerca de 35 % superior, 4.0% (m/m). Verifica-se assim que apesar de o metanol não atingir um rendimento tão próximo do máximo possível para este solvente (recorrendo a uma extração Soxhlet), o rendimento obtido é ainda assim superior ao do diclorometano em descontinuo, sugerindo assim ser vantajoso para o processo industrial.

A nível da remoção de ácidos triterpénicos (*TTAY*), os resultados mostram ser possível obter 82-84 % do rendimento de extração em Soxhlet.

Os ensaios preliminares da seleção do solvente de extração permitem concluir que:

- Nas condições *batch* estudadas, metanol e diclorometano permitem extrair cerca de 82-84 % do máximo de ácidos triterpénicos que cada um destes solventes mostrou ser possível nas extrações Soxhlet;
- Nas condições *batch* estudadas, o metanol permite atingir 59.2% do rendimento total máximo possível para este solvente (Soxhlet), contra 73.0% com diclorometano. No entanto, ainda assim é preferível a utilização de metanol já que, em absoluto, permite obter um *TTY* de 4.0% (m/m) face a 2.9% (m/m) com diclorometano

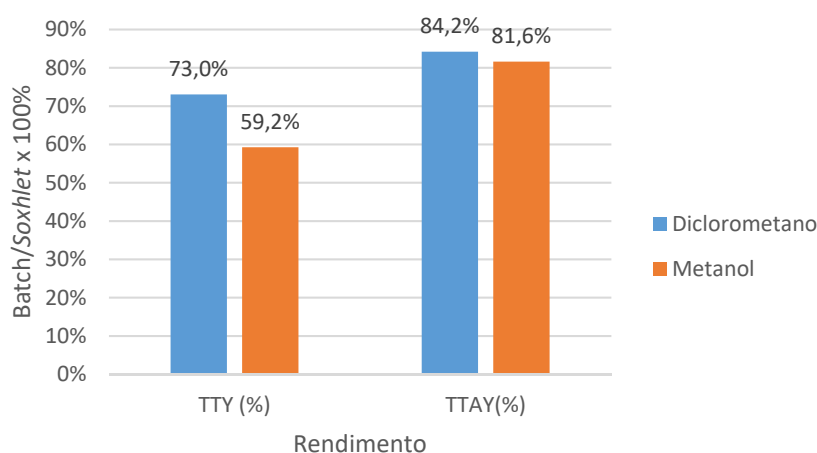


Figura 14 Rendimento total de extração (*TTY*) e rendimento em ácidos triterpénicos (*TTAY*), obtidos por extração sólido-líquido de biomassa industrial durante 24 h, à temperatura ambiente, e com agitação moderada. Resultados apresentados em relação ao rendimento por Soxhlet

3.1.3. Humidade do solvente e biomassa

Uma das particularidades da extração sólido-líquido de matéria-prima vegetal prende-se com a necessidade de acautelar o efeito da humidade no processo, desde logo porque esta pode ser removida da matriz sólida e misturar-se com o solvente, modificando-lhe propriedades como, por exemplo, a capacidade solvente.

A opção pelo metanol como solvente apresenta, como contrapartida, a sua afinidade para a humidade da biomassa. Este efeito leva a um expectável aumento da concentração de água dissolvida no metanol, a qual se sabe originar uma redução muito significativa da solubilidade dos ácidos triterpénicos neste solvente [44–46]. Mais concretamente, verifica-se que numa solução metanol/água com 5 % (v/v) de H₂O, a solubilidade dos ácidos triterpénicos cai para cerca de metade do valor exibido para metanol puro[44–47]. Este facto torna pertinente estudar e acompanhar o efeito da humidade da matéria-prima nos rendimentos de extração obtidos, sobretudo num cenário industrial em que o solvente é reutilizado no processo.

Através da realização de ensaios de titulação Karl-Fischer a amostras de solvente obtidas em descontinuo usando metanol, verifica-se que este, consegue remover entre 90 a 96 % da humidade contida na biomassa (ver Figura 15), quando as condições experimentais são: temperatura ambiente, tempo de extração de 24 h e um rácio solvente/biomassa de 6.7 mL/g. As quantidades de água que o metanol revela ser capaz de remover da biomassa atingem 3.6 % (v/v), o que, de acordo com os resultados da literatura, está dentro da região onde são esperadas quebras significativas de solubilidade dos ácidos.

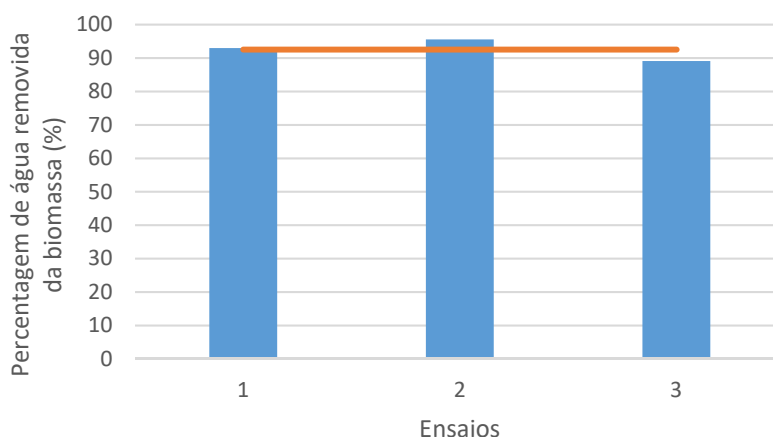


Figura 15 Percentagem de água removida pelo metanol da biomassa vegetal (temperatura ambiente, $t = 24$ h, $R = 6.7$ mL/g de metanol).

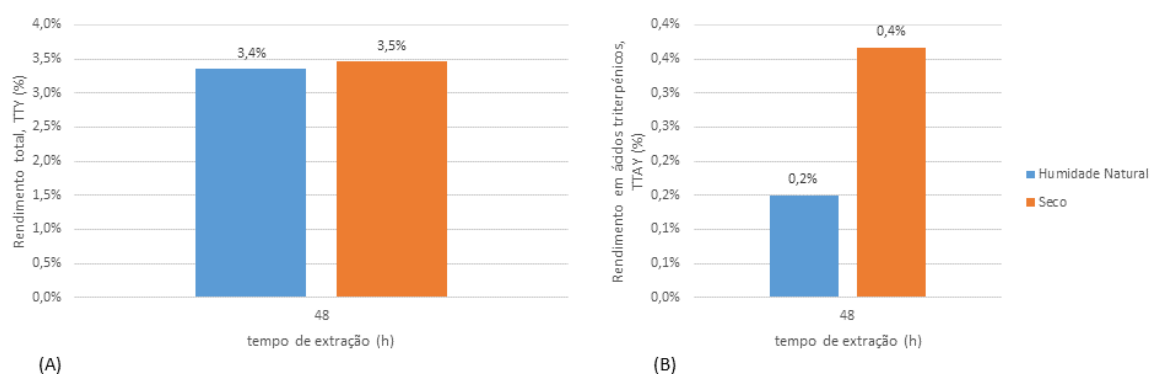


Figura 16(A) Rendimento total de extração (*TTY*) para biomassa com humidade natural e seca, durante 48 horas; (B) Rendimento em ácidos triterpênicos (*TTAY*) para extração com biomassa com humidade natural e seca

Com vista a averiguar a possível perturbação criada no poder solvente do metanol devido ao aumento da concentração de água no mesmo, realizaram-se dois ensaios de extração adicionais, usando biomassa seca (humidade $\approx 5\%$) e biomassa com a humidade natural ($\approx 30\%$). Os resultados são apresentados na Figura 16 para *TTY* e *TTAY*. A nível do rendimento total, não parecem existir diferenças entre a extração com biomassa seca ou com humidade natural, obtendo-se rendimentos na ordem dos 3.4-3.5 % (m/m) nas duas situações. Já em relação à remoção de ácidos triterpênicos, a utilização de biomassa seca conduziu a um valor de *TTAY* de 0.4 % (m/m), o qual é duas vezes superior ao valor de 0.2 % (m/m) utilizando biomassa com humidade natural. Assim, os ensaios preliminares confirmam o efeito inibidor da humidade da biomassa na solubilização dos ácidos triterpênicos, resultado este concordante com dados da literatura.

Do conjunto de experiências realizadas é possível concluir que:

- Nas condições de extração *batch* estudadas, o metanol remove entre 90 a 96 % da humidade natural contida na biomassa, quando se usa um rácio de 6.7 mL/g de metanol
- Não se observam diferenças nos rendimentos globais de extração caso se promova a extração com biomassa seca ($\approx 5\%$ de H_2O) ou com humidade natural ($\approx 30\%$ de H_2O), o que sugere que a secagem da biomassa não aparenta ter qualquer vantagem ao nível da quantidade global de extrato produzida;
- O efeito do aumento da concentração de água no solvente devido à humidade da biomassa faz-se sentir significativamente no rendimento em ácidos triterpênicos,

provocando uma oscilação de 100% entre valores obtidos com biomassa seca e com humidade natural;

- Num processo industrial de extração em metanol é recomendável a introdução de um passo para a purificação do solvente de forma a evitar a acumulação de água no sistema. A destilação é uma alternativa viável.

3.1.4. Extrações sólido-líquido em série

Tendo em conta que, nas condições estudadas (temperatura ambiente, $t = 24$ h, $R = 6.7$ mL/g, agitação moderada, com metanol), a extração sólido-líquido em descontínuo não consegue esgotar a quantidade de solutos que a extração Soxhlet mostra ser possível obter da biomassa (com humidade natural), realizaram-se três ensaios para tentar esclarecer esta observação:

- Ensaio A: 48 horas de extração usando duas cargas de 300 mL de metanol fresco (uma carga durante as primeiras 24 horas, e outra até perfazer o tempo total);
- Ensaio B: 48 horas de extração usando uma carga única de solvente de 300 mL;
- Ensaio C: 24 horas de extração usando uma carga única de solvente de 300 mL;

Como se pode verificar na Figura 17, o rendimento total do Ensaio A foi bastante distinto dos demais ensaios. De facto, a adição de uma segunda carga de metanol permitiu um aumento de TTY para 4.6 % (m/m), o que representa um aumento da exaustão da biomassa de 52% para 68% do máximo admitido para este solvente (extração Soxhlet). Para as mesmas 48 h e sem recurso a uma nova carga de solvente (Ensaio B), o rendimento ficou nos 3.6 %, a que corresponde uma exaustão da biomassa em 52%. Neste contexto, embora produza alguma vantagem nos valores de TTY , a adição de uma segunda carga de solvente à mesma amostra de biomassa não parece ser mais vantajosa do que utilização dessa nova carga de solvente numa nova amostra biomassa. Esta conclusão é corroborada pelos resultados do Ensaio C, onde se mostra que em 24 h com uma biomassa fresca é possível extrair 3.6%, enquanto que com nova carga de solvente e mais 24 h (Ensaio A) o incremento de rendimento é de apenas 1 % (m/m).

Do conjunto de experiências realizadas é possível concluir que:

- A utilização de 2 cargas iguais de metanol fresco para uma mesma amostra de biomassa permite aumentar em 35 % o rendimento total (*TTY*), para 4.6%;
- Na perspectiva da exaustão da biomassa, a utilização de 2 cargas de solvente para uma mesma amostra de biomassa permite extrair até 68% do máximo praticável, contra 52 % caso seja usada uma carga apenas.
- Os resultados sugerem que o ganho de usar mais do que uma carga de solvente por amostra de biomassa, através de extrações em série, é marginal.

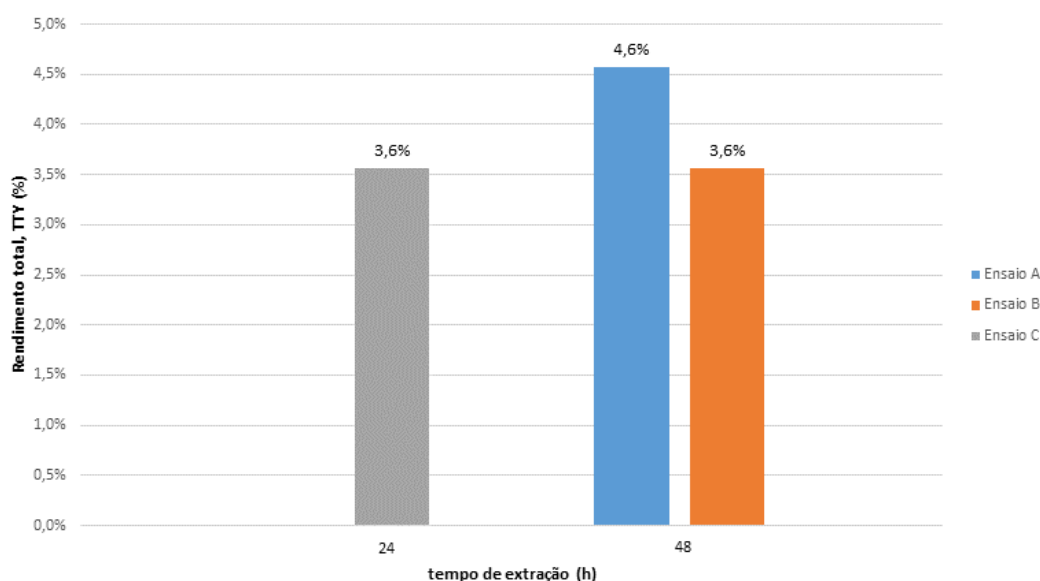


Figura 17 Resultados de rendimento total para extração sólido-líquido segundo três modos de operação: (A) 24 h solvente fresco + 24 h solvente fresco; (B) 48 h com uma carga única de solvente; (C) 24 h com uma carga única de solvente. Condições de extração: temperatura ambiente, $R = 6.7$ mL/g, agitação moderada, com metanol.

3.1.5. Tempo de extração e rácios solvente/biomassa

Para além da maximização absoluta dos rendimentos de extração, a produtividade (rendimento por unidade de tempo de extração) dita a viabilidade de um processo industrial, juntamente com os custos associados a essa produtividade. Nesta perspetiva, dificilmente é vantajoso prolongar uma mesma extração por um longo período de tempo só para garantir que o rendimento obtido é o maior possível. Mostra-se na literatura [39] que o tempo é uma variável decisiva na definição da produtividade de um processo de extração de biomassa vegetal, e que o tempo ótimo se encontra tipicamente em zonas da curva de extração onde se observa uma quebra na velocidade inicial de extração. Assim, e com o

objetivo de determinar uma gama de tempos de extração com interesse para uma otimização experimental, foram medidas curvas cinéticas de extração (*TTY* em função do tempo de extração) para dois valores limite do rácio solvente/biomassa: 5 e 10 mL/g.

As duas curvas de extração medidas estão representadas na Figura 18. Para o rácio solvente/biomassa mais desfavorável, de 5 mL/g, ao fim de 2.5 h foi possível atingir um rendimento total de extração de 1.4 % (m/m). No caso do rácio de 10 mL/g obteve-se um *TTY* de 2.3 % (m/m) o que corresponde a cerca de 50% do valor que tinha sido obtido para as 24 horas (ver Figura 28) para o rácio menos favorável de 6.7 mL/g. Estes resultados sugerem que em cerca de 10 % do tempo de extração anteriormente considerado (24 h), é possível recuperar entre 35 a 50 % do total de extrato existente na biomassa de eucalipto.

Da Figura 18 verifica-se também que a curva de 10 mL/g, o intervalo de tempo em que ocorre a quebra na velocidade inicial de curva de extração situa-se entre as 0.5 horas e as 2.5 horas (demarcado na Figura 18 através de um retângulo). Para o ensaio relativo ao rácio de 5 mL/g, a curva de extração exhibe um perfil linear ao longo das 2.5h, não sendo possível observar uma quebra clara na velocidade de extração inicial.

Do conjunto de experiências realizadas é possível concluir que:

- Para um rácio solvente/biomassa de 10 mL/g é possível recuperar em 2.5 h cerca de 35 a 50% do total de extrato existente na biomassa de eucalipto;
- A extração com rácios solvente/biomassa de 5 e 10 mL/g permitem obter curvas com perfis e valores de rendimento distintos;
- O intervalo de tempo entre 0.5 e 2.5 h é aquele onde é expectável que se situe o tempo ótimo de extração do processo, nas condições de extração estudadas.

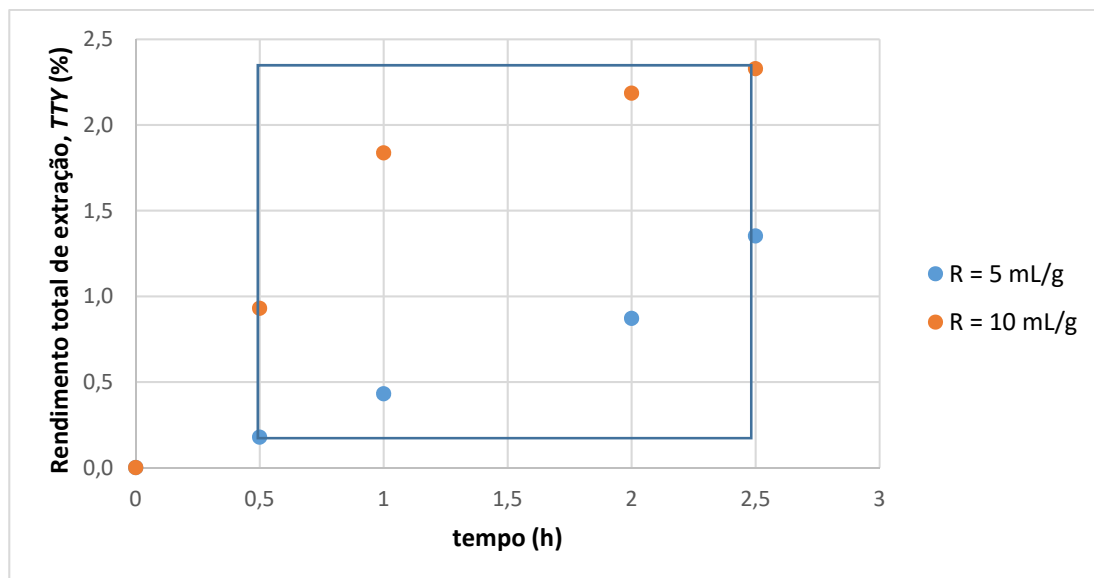


Figura 18 Curvas de extração *batch* (rendimento total em função do tempo) para dois rácios de solvente/biomassa diferentes, 5 e 10mL/g, à temperatura ambiente. Dentro do retângulo encontra-se a gama de tempos de interesse para a otimização experimental.

3.2. Otimização experimental

O conjunto de ensaios apresentados ao longo da seção 3.1 permitiu apurar o impacto de diferentes parâmetros de operação no processo de extração, nomeadamente, o tipo de matéria-prima mais promissora, o efeito da humidade da mesma, o tipo de solvente, o modo de operação (*batches* com um ou duas cargas de solvente), apurar o impacto do perfil de extração ao longo do tempo, e ainda os rácios solvente/biomassa.

Os referidos resultados foram usados para se estruturar a otimização experimental a realizar. Assim, os fatores escolhidos para a otimização experimental são os seguintes:

1. Tempo de extração (t);
2. Rácio solvente/biomassa; (R)
3. Modo de operação (MO).

As gamas de variação e respetiva codificação encontram-se sistematizadas na Tabela 3, tendo-se optado por três níveis de correspondência (0,5, 1,5 e 2,5 h) para o tempo de extração (t), três níveis também para o fator rácio solvente/biomassa (5, 7,5 e 10 mL/g), e dois níveis de correspondência para o modo de operação (descontínuo e semi-contínuo). Contrariamente aos demais fatores, este último tem uma natureza não escalar, representando a alternativa de se operar em modo descontínuo vs. semi-contínuo.

Adotando a abordagem DoE-RSM, foram escolhidas quatro respostas (variáveis dependentes) para a otimização experimental: rendimento total (*TTY*), rendimento em ácidos triterpênicos (*TTAY*), concentração de ácidos triterpênicos no extrato (*TTAC*), e ainda a velocidade global de extração (*VEx*). Esta seleção prende-se com o objetivo de determinar que fatores (variáveis independentes) são significativos a cada resposta, como também a natureza do seu impacto, se positivo ou negativo para cada resposta considerada. Uma vez fixados os fatores e seus níveis, bem como as respostas a estudar, procedeu-se à definição da matriz experimental a utilizar, tendo-se realizado uma análise fatorial completa para os três fatores (*t* e *R* fatores com 3 níveis e *MO* com dois níveis de correspondência), o que totaliza 18 experiências. Estas encontram-se listadas na Tabela 4, sendo de notar que estes ensaios foram realizados aleatoriamente com vista a evitar erros sistemáticos. Em termos dos efeitos considerados, foram escolhidos os efeitos lineares de cada um dos três fatores, os respetivos três efeitos quadráticos ($t \times t$, etc), e ainda as três interações possíveis entre fatores ($t \times R$, etc.). No total todas as análises contemplaram nove efeitos diferentes.

Tabela 3 Codificação e níveis de correspondência dos fatores independentes em estudo

Fator	Variável	Codificação da variável	Níveis de correspondência		
			-1	0	1
Tempo (h)	X_t	$X_t = \frac{t - 1.5}{1}$	0.5	1.5	2.5
Rácio solvente/biomassa (mL/g)	X_R	$X_R = \frac{R - 7.5}{2.5}$	5	7.5	10
Modo de operação	X_{MO}	-	Descontínuo	-	Semi-contínuo

Tabela 4 Resultados experimentais obtidos para a otimização experimental realizada

Experiência	Tempo (h)	Rácio solvente/biomassa	Modo Operação	TTY (%)	TTAY (%)	TTAC (%)	VEx (TTY/h)
1	-1	-1	-1	1.8	0.2	12.0	3.6
2	-1	0	-1	2.1	0.1	6.6	4.1
3	-1	1	-1	2.4	0.1	6.1	4.8
4	-1	-1	1	2.2	0.2	8.6	4.4
5	-1	0	1	2.4	0.2	9.1	4.7
6	-1	1	1	2.0	0.1	4.1	4.0
7	0	-1	-1	2.2	0.1	6.3	1.5
8	0	0	-1	2.3	0.1	5.3	1.5
9	0	1	-1	3.1	0.3	8.2	2.1
10	0	-1	1	2.3	0.2	6.9	1.5
11	0	0	1	3.1	0.2	5.3	2.1
12	0	1	1	3.3	0.2	5.7	2.2
13	1	-1	-1	2.4	0.2	8.0	1.0
14	1	0	-1	3.3	0.3	9.0	1.3
15	1	1	-1	3.3	0.4	11.4	1.3
16	1	-1	1	2.3	0.2	8.1	0.9
17	1	0	1	3.6	0.2	7.0	1.4
18	1	1	1	3.8	0.3	7.2	1.5

Rendimento total (TTY) - Os resultados experimentais obtidos para a resposta TTY encontram-se listados na Tabela 4, podendo-se constatar que os valores estão compreendidos entre 1.8 % (Experiência 1) e 3.8% (Experiência 18). Os efeitos com um impacto significativo nos referidos resultados experimentais são o tempo de extração (linear), o rácio solvente/biomassa (linear) e a interação $t \times R$. Destes, os dois primeiros são os mais influentes, tal como se pode verificar pelas barras do respetivo gráfico de Pareto apresentado na Figura 19 A). Além disso, os referidos três efeitos influenciam a resposta de forma positiva, ou seja, o seu aumento individual traduz-se num ganho para a resposta TTY. Este comportamento pode ser graficamente observado na superfície apresentada na

Figura 20 A) já que a região experimental com *TTY* mais elevados é alcançada para valores máximos de *t* e *R*, e ainda pelo modo como, fixando um dos fatores, o aumento do outro conduz a um aumento de *TTY*. Este era um resultado de esperado, uma vez que, quando se aumenta o tempo de extração ou a quantidade de solvente disponível, o sistema pode solubilizar maiores quantidades de soluto e aumentar o rendimento global da extração. De notar ainda que a referida superfície é a representação gráfica (3D) da equação (7), a qual, por sua vez, foi obtida por ajuste aos dados experimentais de *TTY* (Tabela 4).

Rendimento em ácidos triterpénicos (TTAY) – Para esta resposta, os resultados experimentais obtidos encontram-se entre 0.1 e 0.3 %. Os efeitos que apresentam um impacto estatisticamente significativo na resposta *TTAY* são o tempo de extração (linear e quadrático) e a interação $t \times R$. Destes efeitos, o mais influente é a interação entre o tempo e o rácio de solvente, como se pode verificar pela Figura 19B). Em todo caso, os dois efeitos referidos têm um impacto positivo na resposta *TTAY*, ou seja, o seu aumento favorece a remoção de ácidos triterpénicos da biomassa. O facto de a interação $t \times R$ ser o efeito mais importante sobre *TTAY* sugere a existência de uma solubilização seletiva dos ácidos em questão, a qual implique com que a uma maior disponibilidade de solvente tenha de corresponder um ajuste do tempo de extração para que a remoção dos ácidos triterpénicos seja especialmente favorecida. Neste sentido, verifica-se na superfície apresentada na Figura 20 B) que, para um maior *t* e *R*, a resposta *TTAY* atinge o seu máximo, e que, fixando *R*, um aumento do tempo de extração conduz a um aumento na resposta em estudo. É de referir que a superfície da Figura 20B) é a representação gráfica da equação (8), de forma análoga ao descrito para a resposta *TTY*.

Concentração de ácidos triterpénicos no extrato (TTAC) – Os resultados da resposta *TTAC*, obtidos pela divisão dos respetivos valores *TTAY* por *TTY*, encontram-se listados na Tabela 4, e exibem uma variação entre os 5.3 % (Experiência 8) e os 12.0 % (Experiência 1). Apenas dois dos nove efeitos considerados impõem um impacto estatisticamente significativo nesta resposta: t^2 e $t \times R$. Ambos os efeitos têm um impacto positivo na resposta. Por análise da Figura 19 C) verifica-se que o fator tempo é de facto aquele que tem maior influência na concentração de ácidos no extrato. Este comportamento está patente na Figura 20 C) (representação gráfica da equação (9)), já que este fator impõe um

pronunciado perfil parabólico em $TTAC$, criando uma alargada região de mínimos de concentração. Consequentemente, observam-se duas regiões de $TTAC$ máximos, correspondendo às zonas que combinam menor R e menor t , e maior t e maior R . Sendo esta uma resposta que relaciona as respostas $TTAY$ e TTY , verifica-se que a solubilização seletiva dos ácidos triterpénicos (em relação a outros compostos extratáveis) é muito influenciada pela combinação rácio solvente/biomassa e tempo de extração.

Velocidade global de extração (VEx) – Os resultados obtidos para a resposta VEx , a qual resulta da divisão de TTY pelo correspondente tempo de extração, encontram-se na gama de valores entre 0.9 e 4.8 %/h, correspondentes às Experiências 16 e 3 da Tabela 4, respetivamente. Trata-se de uma variação muito significativa, a qual pode ter fortes repercussões ao nível da produtividade de um processo industrial. Para esta resposta, os efeitos estatisticamente significativos são exclusivamente o fator t (linear e quadrático), verificando-se um impacto negativo na resposta, ou seja, o aumento do tempo de extração leva a uma diminuição do valor de VEx . Por outro lado, o valor positivo do efeito quadrático do tempo indica a existência de uma região de mínimo. Através da representação gráfica da equação (10) na Figura 20 D), comprova-se que, independentemente de R , o aumento de t representa uma diminuição da velocidade, e ainda que existe uma região de mínimo localizada para tempos de extração mais elevados. Os resultados obtidos correspondem ao comportamento esperado, uma vez que para valores baixos de t , a extração tende a ocorrer a velocidades mais elevadas, devido ao contacto com solvente fresco. Por outro lado, à medida que tempos de extração mais longos são considerados, a taxa de extração diminui, o que corresponde a zonas de quebra do andamento das curvas de extração (Ver Figura 18), uma vez que, para tempos mais longos de extração a força diretriz, a diferença de concentração entre a biomassa e o solvente, diminui.

Da otimização experimental realizada é possível concluir que:

- O modo de operação (MO) não é, na gama de condições estudadas, um fator estatisticamente significativo capaz de influenciar qualquer uma das respostas estudadas. Por este motivo a opção pelo método de operação mais simples, extração em descontinuo, é preferível.

- O fator t é o mais decisivo nas quatro respostas estudadas, seguido da variável rácio solvente/biomassa (R). Finalmente a interação binária destes dois fatores mostra-se significativa para todas as respostas exceto para a velocidade global de extração.
- O sentido e extensão com que t e R influenciam as respostas não é igual para todas, sendo necessário fixar os seus valores em função da hierarquização da importância das respostas ou de um compromisso entre as mesmas.

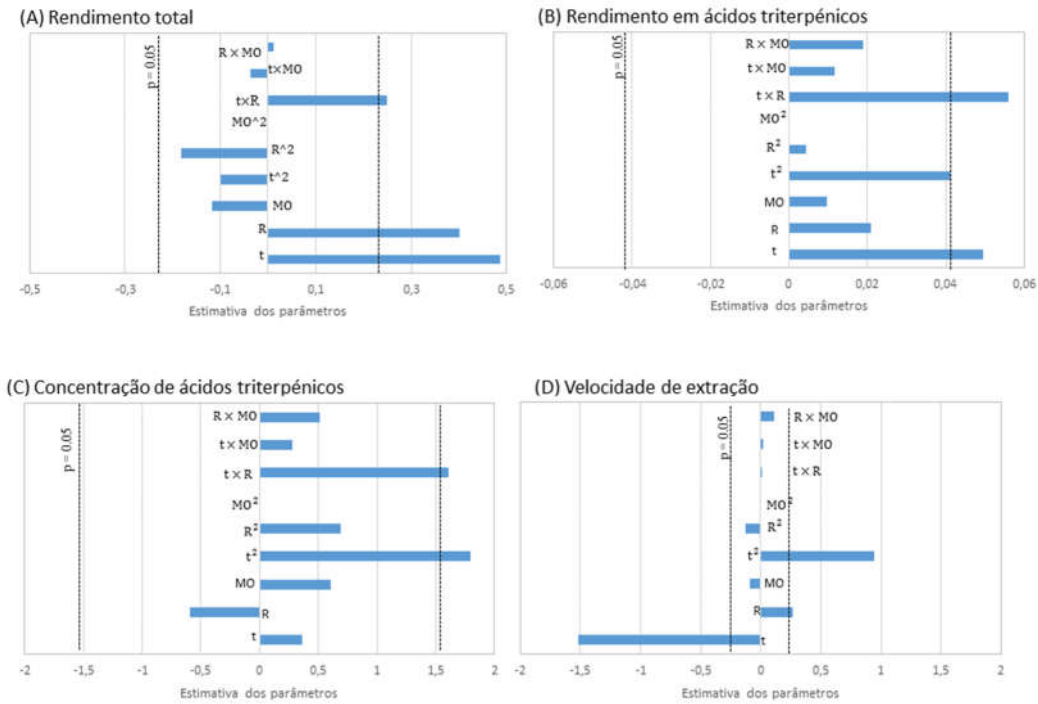


Figura 19 Gráficos de Pareto para as quatro respostas estudadas: A) rendimento total (TTY), B) rendimento em ácidos triterpénicos ($TTAY$), C) concentração de ácidos triterpénicos ($TTAC$) e D) velocidade de extração (VE_x).

$$TTY = 2.6603 + 0.4872X_t + 0.4012X_R + 0.2486X_tX_R \quad R^2 = 0.89 \quad (7)$$

$$TTAY = 0.1993 + 0.0495X_t + 0.056X_tX_R \quad R^2 = 0.86 \quad (8)$$

$$TTAC = 6.2935 + 1.6078X_tX_R + 1.7968X_t^2 \quad R^2 = 0.72 \quad (9)$$

$$VE_x = 1.8182 - 1.5171X_t + 0.2633X_R + 0.9444X_t^2 \quad R^2 = 0.98 \quad (10)$$

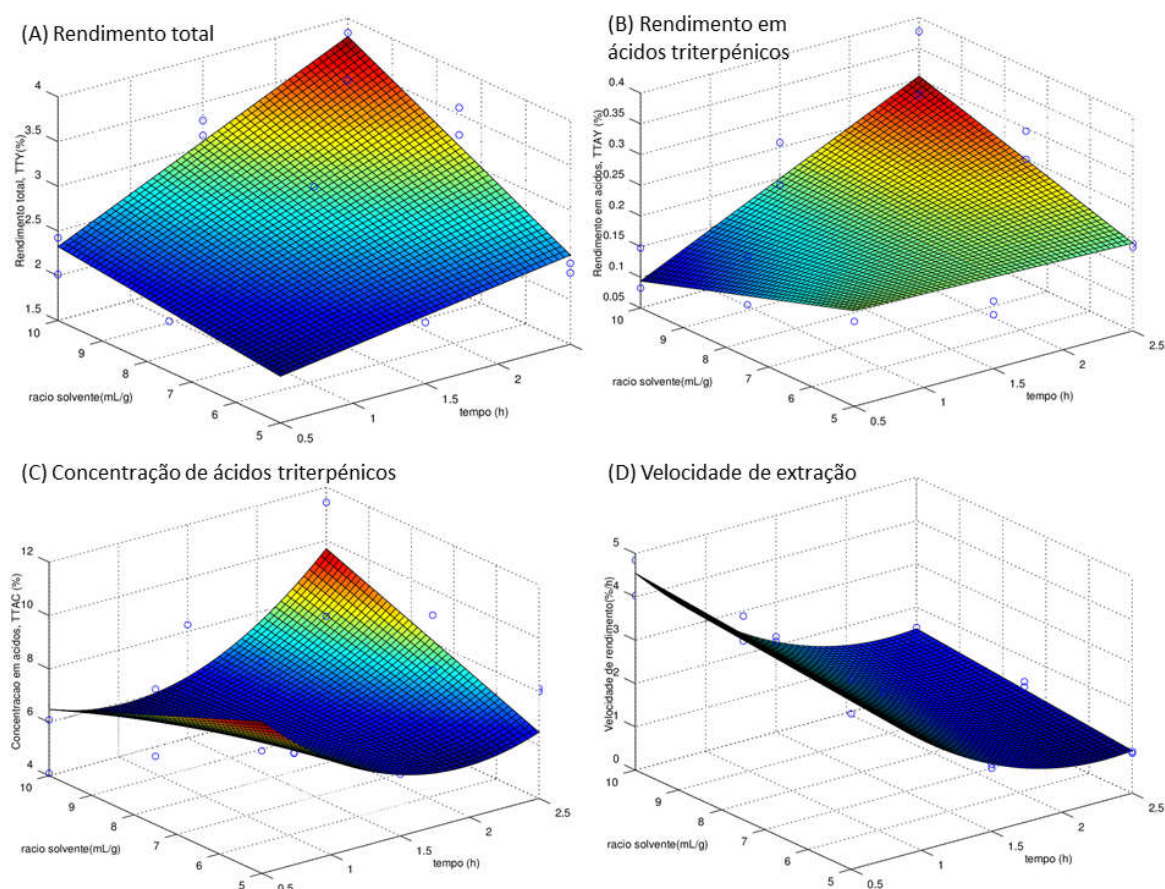


Figura 20 Superfícies de resposta em função dos fatores não codificados para: (A) rendimento total, (B) rendimento em ácidos triterpênicos, (C) concentração de ácidos triterpênicos e (D) velocidade de extração com os respectivos pontos experimentais obtidos

3.3. Ensaios Pós-otimização

3.3.1. Refinamento das condições de operação

A otimização experimental realizada aponta para uma complementaridade entre o tempo de extração (t) e o rácio de solvente/biomassa (R). Com vista a perceber um pouco melhor esta interdependência, procedeu-se a um refinamento das condições de operação, através da redução do rácio solvente/biomassa para um mínimo tecnicamente possível: 3.75 mL/g. Este ensaio foi realizado em *batch* para um tempo de extração de 0.5 h, e a resposta avaliada foi o rendimento total de extração TTY. O resultado obtido encontra-se na Figura 21, juntamente com os três pontos previamente medidos para $t=0.5$ h (Tabela 4). Verifica-se, que parece existir uma linearidade entre TTY e R até ao valor de 5 mL/g, observando-se, acima deste valor uma quebra no seu andamento. Tal interrupção de linearidade indica que,

para um *batch* em que a quantidade de biomassa permaneça constante, o aumento da quantidade de solvente disponível não se traduz num ganho proporcional em quantidade de extrato produzido, levando a um subaproveitamento do mesmo. Uma implicação direta é que o uso de um rácio tão elevado como 10 mL/g representa, nas condições estudadas, a situação menos vantajosa para o processo industrial de extração. Por este motivo, decidiu-se utilizar apenas os rácios de 5 mL/g (valor em que ainda se observa um andamento linear de *TTY*) e 7.5 mL/g (valor fora da região linear) na análise tecno-económica a realizar.

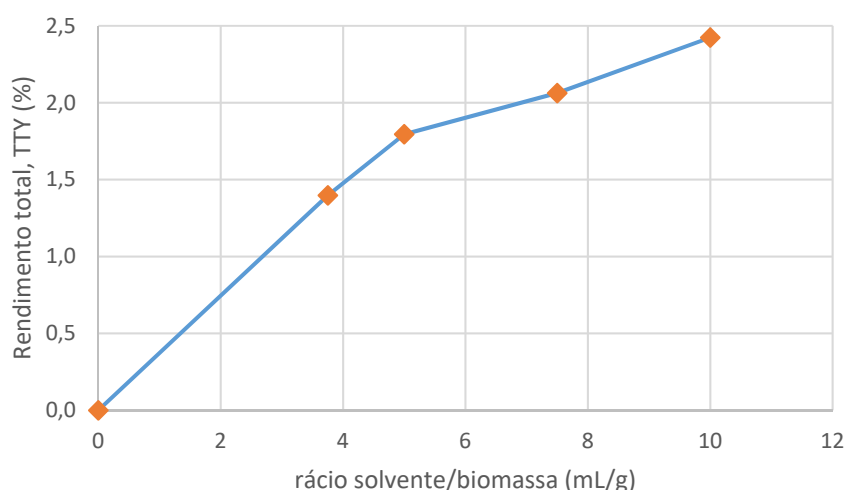


Figura 21 Rendimento total de extração (TTY) em função do rácio de solvente/biomassa, para um tempo de extração constante, de 0.5 h

3.3.2. Estimativa do tempo de extração sólido-líquido ótimo

Para uma extração sólido-líquido, à semelhança do que ocorre com a extração supercrítica [39,48,49], o tempo de extração para o qual o custo de produção é mínimo pode ser estimado por análise gráfica das curvas de extração, através da interseção de duas retas: uma que ajusta os pontos iniciais do processo, onde a velocidade de extração é máxima, e a reta que ajusta os últimos pontos da curva de extração, em que a velocidade é mínima porque o processo tende para o equilíbrio ou fica limitado pela difusão intraparticular. A aplicação deste método encontra-se ilustrada na Figura 22, tendo-se obtidos uma estimativa do tempo de extração ótimo para cada um dos dois rácios considerados, 5 e 7.5 mL/g, no valor de 0.67 e 0.79 h, respetivamente. Estes valores foram usados na análise tecno-económica descrita na secção 3.5.

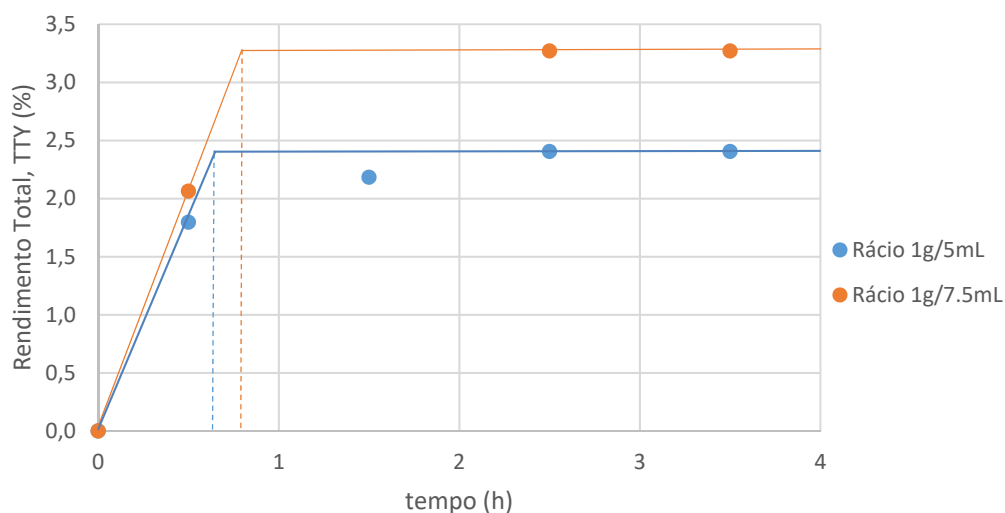


Figura 22 Determinação do tempo ótimo de extração para o rácio solvente/biomassa de 5 mL/g e 7.5mL/g

3.4. Projeto e simulação de uma unidade industrial de extração

Para o projeto e simulação do processo foi necessário definir um objetivo anual de produção de extrato. Para este efeito fixou-se o valor de 1000 ton de extrato por ano, o qual se estima poder corresponder a uma capacidade de produção comercialmente aceitável para as possíveis aplicações finais dos extratos produzidos (fonte: *The Navigator Company*). Com base nesta informação, determinaram-se as quantidades de biomassa industrial de eucalipto que a unidade industrial de extração precisa de processar nos dois cenários de rácios solvente/biomassa considerados. Os referidos dados são apresentados na Tabela 5, podendo-se verificar que entre os dois casos considerados (Cenário A e Cenário B), a quantidade de biomassa industrial a processar oscila entre 70.5 e 77.8 kton/ano.

Seguidamente, procedeu-se ao projeto do processo de extração, cujo diagrama processual se apresenta na Figura 23. No processo proposto, a biomassa fresca é colocada no extrator (“Extrator 1” ou “Extrator 2”, na Figura 23), o qual é alimentado com solvente proveniente do tanque de metanol (“Tanque MeOH”) por intermédio de uma bomba (“Bomba 1”) nas proporções definidas em cada cenário (ver Tabela 5). A biomassa contida no extrator contacta com o solvente durante o tempo de extração calculado na secção 3.3.2 (0.67 ou 0.79 h), findo o qual a solução do extrato é descarregada pela base do extrator para um tanque de recolha (“Tanque de extrato”). O extrator é então aquecido com recurso a vapor de baixa pressão – excedentário na fábrica de pasta e papel da *The Navigator Company* -

com vista à evaporação do solvente impregnado na biomassa. Como o solvente evaporado contém água misturada, esta corrente é enviada diretamente para uma coluna de destilação (“Destilação”). No que diz respeito à corrente de extrato, esta é alimentada a um evaporador (“Evaporador”) onde se obtém, como produto de cauda, o extrato sólido, livre de solvente e de humidade. A corrente de topo, que consiste numa mistura de metanol e água é também alimentada à referida coluna de destilação, com o objetivo de separar a água (resíduo) do metanol. O metanol é recuperado como destilado com uma pureza de 99.9 % (m/m), sendo depois armazenado no tanque de metanol (“Tanque MeOH”) para reutilização na etapa de extração.

O processo apresentado compreende dois extratores que operam de forma alternada para que, enquanto um está ativo, o outro está a ser preparado (drenar o solvente contendo o extrato, secar a biomassa, descarregar a biomassa gasta, e carregar biomassa fresca) para um novo ciclo de extração.

A coluna de destilação foi projetada recorrendo ao software Aspen Plus (v 8.4), utilizando o modelo UNIQUAC para calcular os coeficientes de atividade na fase líquida. Um estudo preliminar permitiu determinar que, de forma a garantir que o metanol destilado tenha uma pureza de 99.9% (m/m), o número de pratos teóricos necessários para realizar a separação é 21, e o diâmetro da coluna é 4.3 m.

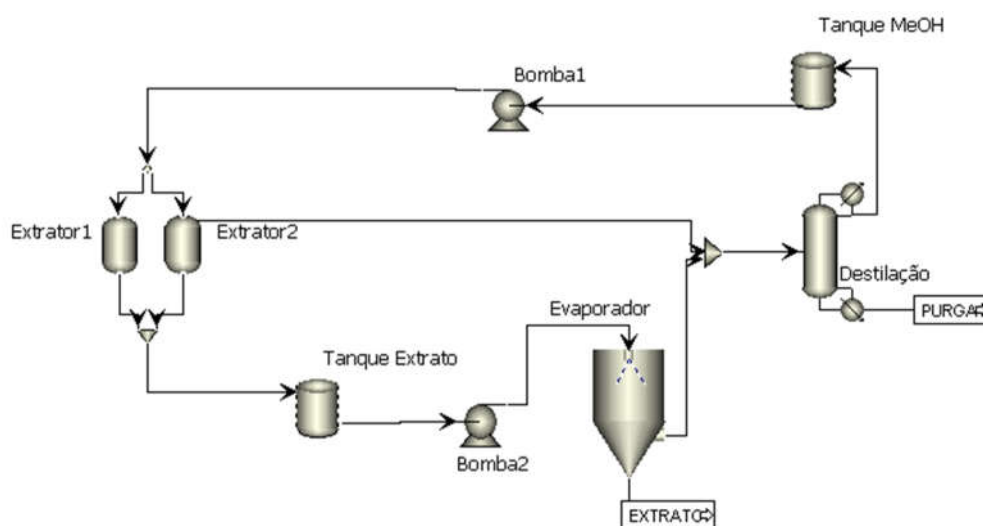


Figura 23 Diagrama proposto para um processo comercial de extração de biomassa industrial.

Tabela 5 Necessidade de biomassa industrial a extrair em cada um dos cenários de produção considerados.

	R (mL/g)	t (h)	TTY (%)	Produção de extrato (ton/ano)	Caudal de biomassa húmida (kton/ano)
Cenário A	5.0	0.67	1.9	948	77.9
Cenário B	7.5	0.79	2.2	1000	70.5

Uma vez projetada a unidade, procedeu-se à simulação da mesma em Aspen Plus, com vista a obter uma estimativa das utilidades do processo, nomeadamente, energia elétrica, vapor de água e água de refrigeração. A simulação da unidade contemplou apenas as correntes líquidas do processo. A simulação das operações unitárias que envolvem sólidos, tais como a recuperação do solvente existente na biomassa após cada ciclo de extração, foi realizada em folha de cálculo.

Na Tabela 6 encontram-se listadas as necessidades do processo para os dois cenários considerados (ver Tabela 5), podendo-se observar que o aumento do rácio solvente/biomassa implica um aumento do consumo de utilidades do processo em todas as operações consideradas, exceto na recuperação de solvente da biomassa, uma vez que para rácios superiores a quantidade de biomassa a processar pela unidade diminui, diminuindo assim as necessidades energéticas deste passo. Para o caso da destilação, por exemplo, o consumo de vapor de baixa pressão passa de 169.5 para 215.0 kton/ano.

É ainda importante referir que as análises apresentadas na Tabela 6 têm em consideração a recuperação do solvente que se encontra impregnado na biomassa após a extração. No entanto, também foi realizada a simulação para o caso em que este solvente é descartado em conjunto com a biomassa. Estes dados foram usados na análise tecno-económica, discutida na secção seguinte.

Tabela 6 Necessidades de utilidades do processo de extração, nos dois cenários de produção considerados.

	Cenário A (5 mL/g e 0.67 h)			Cenário B (7.5 mL e 0.79 h)		
	Água de refrigeração (kton / ano)	Vapor de água (kton / ano)	Energia Elétrica (GJ/ano)	Água de refrigeração (kton / ano)	Vapor de água (kton / ano)	Energia Elétrica (GJ/ano)
Evaporação de solvente (recuperação do extrato sólido)	-	190.5		-	248.5	
Destilação (purificação do metanol para reutilização)	18340.7	169.5		23604.6	215.0	
Recuperação do solvente contido na biomassa (no fim de cada batch)	-	13.5		-	12.2	
Bombagem			12.9			17.3
Total	18340.7	373.5	12.9	23604.6	475.7	17.3

3.5. Análise tecno-económica

Tendo por base as informações de projeto e simulações abordadas na subsecção anterior, nomeadamente, o dimensionamento da produção de extrato, a conceção do diagrama de processo e a estimativa de utilidades, foram definidas todas as premissas necessárias para a análise tecno-económica, compiladas na Tabela 7. Estas encontram-se organizadas de acordo com cada parcela da equação do custo de produção (COM, do inglês *Cost of Manufacturing*) a que dizem respeito (ver Equação(6)), com exceção da categoria “Geral”, que diz respeito a informações genéricas sobre parâmetros de operação da unidade industrial. Esta inclui dados como o período de operação da unidade industrial (24h/dia, 330 dias/ano) e ainda informações relativas ao processo de extração, tais como a pureza do metanol no início de cada extração (99.9 % (m/m)), pressão de operação (1 bar) e a humidade inicial da biomassa (34.8% (m/m)). No campo dos custos de investimento (FCI),

apresenta-se a estimativa de custos de investimento na unidade (4 M€), que foi fornecida pela empresa de pasta e papel associada a esta dissertação. O mesmo se aplica aos custos das utilidades vapor de baixa pressão (8.0 €/ton) e água de refrigeração (0.06 €/m³).

Tabela 7 Lista de pressupostos para análise económica e cálculo do custo de produção

Geral	<ul style="list-style-type: none"> • Produção anual: 1000 ton/ano • Pureza do metanol no início de cada extração: 99.9 % (m/m). • Pressão de operação: 1 bar • Humidade inicial da biomassa: 34.8% (m/m) • Água removida da biomassa pelo solvente: 72.5 % do total • Tempo de carga e descarga do extrator: 0.5 horas • Período de operação da unidade: 24 h/dia, 330 dias/ano
FCI	<ul style="list-style-type: none"> • O custo da unidade industrial: 4 M€ * • Amortização anual de 10%
COL	<ul style="list-style-type: none"> • Número de trabalhadores por extrator: 1 • Custo do trabalho: 10 €/(h trabalhador)
CUT	<ul style="list-style-type: none"> • Custo do vapor de baixa pressão: 8.0 €/ton * • Custo da água de refrigeração: 0.06 €/m³ *
CWT	<ul style="list-style-type: none"> • Não há custos de tratamento de resíduos, uma vez que é uma unidade integrada;
CRM	<ul style="list-style-type: none"> • 0.190 €/L de metanol [50] • Metanol impregnado na biomassa: 1 m³/ton **

* Valores fornecidos pela empresa de *The Navigator Company*.

** Dado obtido por observação experimental

Uma vez definidos todos os pressupostos necessários, procedeu-se à análise tecno-económica, nomeadamente ao cálculo das parcelas que permitem obter o COM para os dois cenários estudados. Os resultados encontram-se na Tabela 8, sendo apresentados valores distintos para cada cenário em função de se recuperar, ou não, o solvente que fica retido na biomassa no fim de cada extração. Neste sentido, caso não se realize a recuperação do solvente, o custo de produção é de 25.0 e 22.4 €/kg para o rácio de

solvente/biomassa de 5 e 7.5 mL/g respetivamente. No cenário em que se considera a recuperação do solvente impregnado na biomassa no final de cada ciclo de extração, é possível reduzir 89 ou 84 % o custo de produção obtido para o caso anterior obtendo-se assim um COM de 5.7 e 6.8 €/kg para os rácios solvente/biomassa de 5 e 7.5 mL/g, respetivamente. Esta redução acentuada do custo de produção é explicada pela redução do custo de matérias-primas, uma vez que a decisão de recuperar o metanol da biomassa substitui custos de CRM (relacionados com a compra de metanol de make-up) por custos com utilidades (vapor de baixa pressão).

Tabela 8 Custo de produção do extrato, em €/kg, para os dois rácios estudados, com e sem recuperação de solvente impregnando na biomassa no fim de cada extração.

	Caudal de biomassa (kton/ano)	Produção de extrato (ton/ano)	COM (€/kg)	
			Sem recuperação do solvente	Com recuperação do solvente
Cenário A	77.9	947.95	25.0	5.7
Cenário B	70.5	1000	22.4	6.8

Com vista a compreender melhor os valores de COM obtidos para cada cenário, apresenta-se na Figura 24 o peso de cada parcela que compõe o COM (equação (6)), a saber, FCI, CUT, COL e CRM. O custo com utilidades, CUT, representa a maior fatia do custo de produção: 93.7 % para o Cenário A e 95 % para o Cenário B. Atendendo a que neste último caso o consumo de solvente em cada *batch* é 1.5 vezes superior ao do cenário A, tal facto justifica que o respetivo CUT seja superior em 1.3 pontos percentuais. Por outro lado, caso o solvente não seja recuperado, a parcela CRM ganha uma muito maior importância para os dois cenários, passando a representar 73.6 a 76.9 % do COM.

Em segundo lugar em importância surge o custo de trabalho (COL), que apresenta uma contribuição de 4.0 % e 3.2 % para o valor global de COM dos Cenários A e B, respetivamente. Por último surge FCI, o qual, sendo um custo fixo do processo, não representa mais do que 2.3 % do custo total do extrato, em qualquer dos casos.

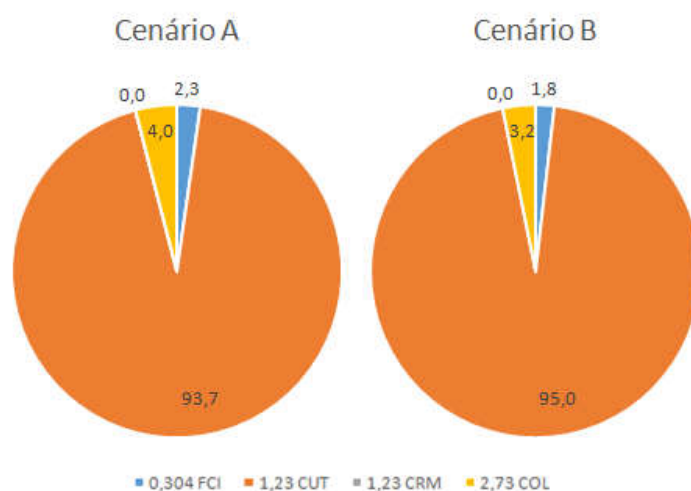


Figura 24 Percentagem de cada parcela no COM, para o caso com recuperação de solvente da biomassa

3.5.1. Análise de sensibilidade: impacto da reutilização de solvente com humidade no COM

Tendo em conta a preponderância que os custos de utilidades têm nos valores de COM, decidiu-se investigar o desempenho tecno-económico do processo caso se evite a destilação do solvente no fim de cada *batch*, e se reutilize o solvente contendo humidade. Assim, é possível conceber um novo cenário processual em que, após a recuperação do extrato no evaporador, o solvente (contendo a humidade removida na extração) é condensado e reutilizado para uma nova extração. No entanto esta reutilização do solvente apesar de aparentemente mais barata para o processo (uma vez que os gastos com a destilação são reduzidos) é feita à custa de uma expectável quebra no rendimento total da biomassa devido à presença de água no solvente.

Através de um conjunto de ensaios experimentais realizados para responder a esta análise de sensibilidade, a quebra do rendimento em função da percentagem de humidade no solvente é exibida na Figura 25, para extração *batch*, rácio solvente/biomassa de 5 mL/g e um tempo de extração de 0.5 h. Os resultados permitem demonstrar que o aumento da quantidade de água presente no solvente tem um impacto negativo no rendimento total (*TTY*), passando de cerca de 1.80% (m/m) (metanol seco) para um rendimento de 1.15 % (metanol possui 15% (v/v) de água). Admitindo que o solvente, em cada passagem, remove cerca de 72.5% da água contida na biomassa (ver Tabela 7), e utilizando os dados obtidos

para o rendimento total em função da fração volumétrica de água, determinou-se a quantidade de extrato que é possível produzir em função do número de passagens (utilizações) de solvente não destilado. A Tabela 9 mostra que, quando se aumenta o número de passagens até um total de 5, a produção anual de extrato na unidade industrial considerada cai 14.4%, de 1067, para 913 ton.

Além disso, é importante referir que a reutilização do solvente para mais do que uma passagem implica a necessidade de um novo equipamento, um permutador de calor à saída do evaporador, que possibilite a condensação do solvente e sua reutilização direta na extração *batch* seguinte. O projeto desta unidade foi então realizado, podendo ser consultado em mais detalhe no Anexo 6.3. O diagrama processual do novo cenário processual considerado apresenta-se na Figura 26, onde se pode ver a nova possibilidade de enviar o solvente diretamente do evaporador para o extrator, passando nesse trajeto pelo permutador de calor projetado.

Quando se analisa o impacto do aumento do número de passagens do solvente no custo de produção (COM), o qual é apresentado na Figura 27, observa-se a existência de um valor mínimo quando se realizam 3 passagens com o mesmo solvente, conseguindo-se um COM de 4.1 €/kg. Este valor significa uma redução de 20% no custo de produção anteriormente apresentado como o melhor COM para extração de eucalipto a partir de biomassa industrial de eucalipto. Assim, a análise de sensibilidade realizada sugere que a reutilização de solvente pode ser uma opção processual a considerar, pese embora a redução na produtividade da unidade industrial.

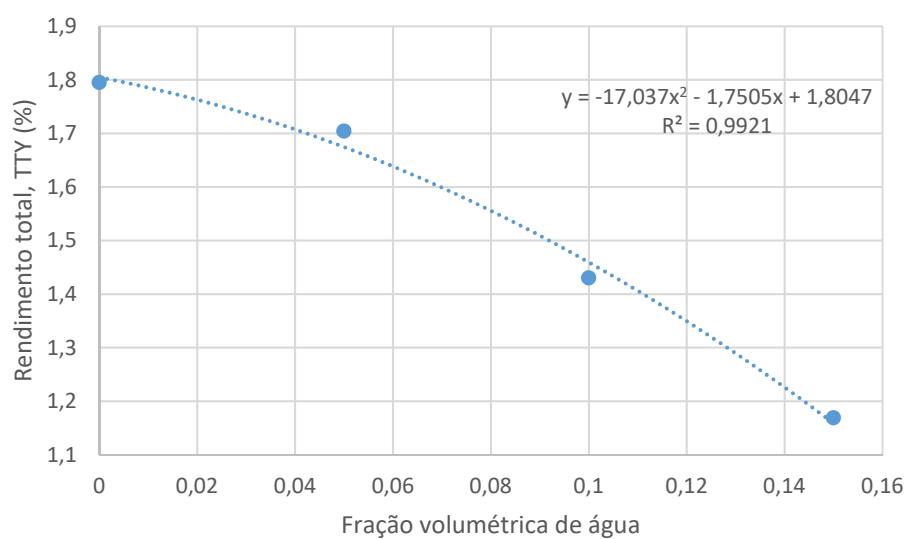


Figura 25 Rendimento total de extração em função da fração volumétrica de água no solvente, para um rácio solvente/biomassa de 5 mL/g e um tempo de extração de 0.5 h

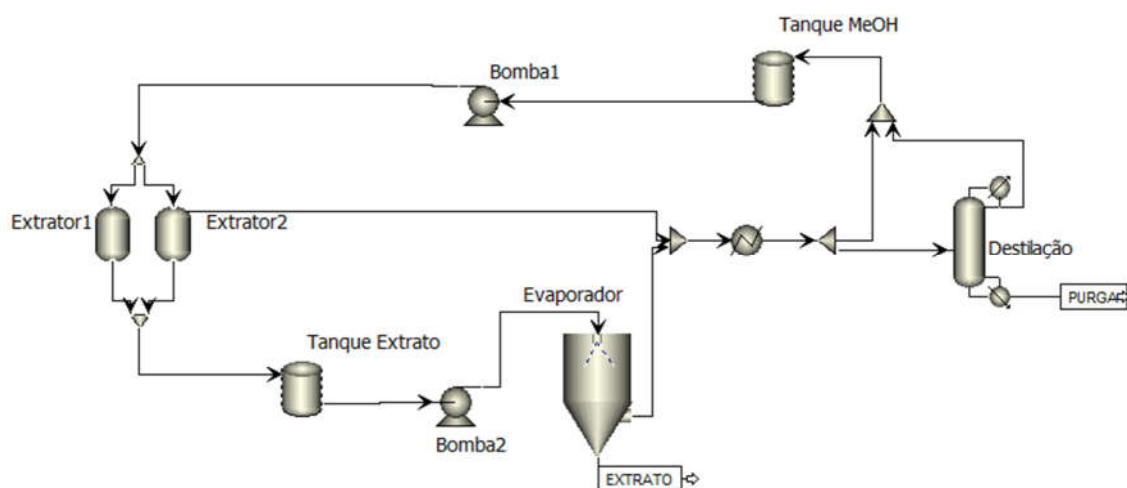


Figura 26 Diagrama de fluxo proposto para um processo com reutilização do solvente entre passos de extração consecutivos, onde o solvente após a evaporação é condensado e armazenado para uma nova passagem.

Tabela 9 Caudal de biomassa processada e massa de extrato produzido considerando diferentes números de passagens de solvente, para uma base de

nº passagens	Caudal de biomassa (kton/ano)	Produção de extrato (ton/ano)
1	91.1	1067.1
2		1042.8
3		1007.6
4		964.0
5		913.1

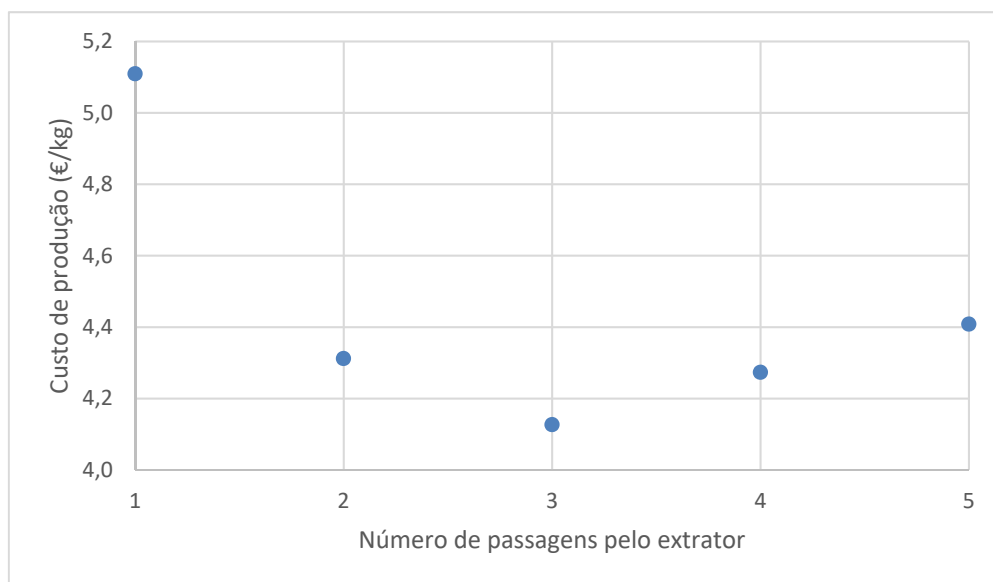


Figura 27 Custo de produção em função do número de passagens do solvente pela biomassa

4. Conclusões e Trabalho Futuro

Nesta dissertação realizou-se um estudo da extração de ácidos triterpénicos de biomassa industrial de eucalipto (*E. globulus*), desde uma fase laboratorial, em que se pretendia caracterizar a matéria-prima e determinar que variáveis são mais relevantes no processo de extração, até uma análise tecno-económica do processo industrial. A motivação deste trabalho decorre de uma parceria entre a Universidade de Aveiro e o RAIZ – Instituto de Investigação da Floresta e Papel, para o desenvolvimento de um processo industrial de extração de ácidos triterpénicos.

Os ensaios preliminares permitiram identificar as variáveis que têm uma maior influência sobre o rendimento total de extração (TTY) e o rendimento em ácidos triterpénicos ($TTAY$). Assim, identificou-se que: (i) o uso de biomassa industrial conduz a um TTY de 6.7% (m/m) vs. 5.8 % (m/m) no caso da utilização de casca; (ii) a secagem da biomassa permitiu duplicar $TTAY$ para 0.4%, mas não aumentar TTY ; (iii) o tempo de extração (t) e o rácio solvente/biomassa (R) utilizado durante a extração têm um impacto significativo no rendimento.

A otimização experimental realizada incidiu sobre o impacto de três variáveis (fatores) selecionados: t , R e o modo de operação (MO , *batch* vs. semi-contínuo). As respostas otimizadas foram TTY , $TTAY$, concentração de ácidos triterpénicos no extrato ($TTAC$) e velocidade de extração (VEx). Verificou-se que os efeitos estatisticamente significativos para TTY são t (+, efeito positivo), R (+), e o produto $t \times R$ (+), enquanto que para $TTAY$ os efeitos são t (+), t^2 (+) e $t \times R$ (+). Já para $TTAC$ os respetivos efeitos são t^2 (+) e $t \times R$ (+). Finalmente, para VEx , os efeitos mais importantes são t (-), t^2 (+) e $t \times R$ (+). De realçar que MO não mostrou ser estatisticamente significativo em qualquer uma das respostas.

Após a otimização experimental, realizou-se o projeto preliminar de uma unidade industrial com capacidade de produção anual de 1000 ton de extrato, e a estimativa dos tempos ótimos de extração: 0.67 h para o cenário A ($R = 5$ mL/g) e 0.79 h para o cenário B ($R = 7.5$ mL/g). Seguiu-se uma análise técnico-económica do processo, tendo-se determinado que a recuperação do solvente impregnado na biomassa após cada ciclo de extração é decisiva para reduzir o custo de produção (COM) do extrato. Nesse pressuposto, o valor de COM desce para os 5.7 €/kg e 6.8 €/kg consoante seja considerado o cenário A ou B, respetivamente. Uma análise de sensibilidade permitiu verificar que a reutilização do mesmo solvente três vezes (sem destilação) permite diminuir o valor de COM do cenário A

para 4.1 €/kg de extrato, pese embora seja expectável uma redução de 14.4% na produção extrato.

Sugestões de trabalho futuro

Como proposta de trabalho futuro recomenda-se um estudo do processo e dos extratos obtidos recorrendo a biomassa moída, com granulometria controlada, e respetiva análise técnico-económica. Podemos antecipar que a diminuição da granulometria da matéria-prima permita obter um maior rendimento de extração e uma maior velocidade de extração, devido à diminuição das limitações difusionais internas. Recomenda-se ainda a repetição da análise de sensibilidade efetuada, passando o tempo de extração a ser o tempo ótimo de extração.

5. Bibliografia

- [1] J.H. Clark, V. Budarin, F.E.I. Deswarte, J.J.E. Hardy, F.M. Kerton, A.J. Hunt, R. Luque, D.J. Macquarrie, K. Milkowski, A. Rodriguez, O. Samuel, S.J. Tavener, R.J. White, A.J. Wilson, Green chemistry and the biorefinery: A partnership for a sustainable future, *Green Chem.* 8 (2006) 853–860.
- [2] F. Ullmann, Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry, 6th ed., 1999.
- [3] A. Van Heiningen, Converting a kraft pulp mill into an integrated forest biorefinery, *Pulp Pap. Canada.* 107 (2006) 38–43.
- [4] Parlamento Europeu, Conselho da União Europeia, Directiva 2009/28/Ce, J. Of. Da União Eur. 2008 (2009) 16–62.
- [5] JRC, Best Available Techniques (BAT). Reference Document for the Production of Pulp, Paper and Board, 2015.
- [6] CELPA, Boletim Estatístico 2014 Indústria Papeleira Portuguesa, 2014.
- [7] H. Lu, A. Cornell, F. Alvarado, M. Behm, S. Leijonmarck, J. Li, P. Tomani, G. Lindbergh, Lignin as a Binder Material for Eco-Friendly Li-Ion Batteries, *Materials (Basel)*. 9 (2016) 127.
- [8] C.A. Cateto, M.F. Barreiro, A.E. Rodrigues, M.N. Belgacem, Rigid polyurethane foams from lignin based polyols, *IV Int. Conf. Times Polym. Compos.* (2008).
- [9] P.C.R. Pinto, C.E. Costa, A.E. Rodrigues, Oxidation of lignin from eucalyptus globulus pulping liquors to produce syringaldehyde and vanillin, *Ind. Eng. Chem. Res.* 52 (2013) 4421–4428.
- [10] D. Sebastião, M.S. Gonçalves, S. Marques, C. Fonseca, F. Gírio, A.C. Oliveira, C.T. Matos, Bioresource Technology Life cycle assessment of advanced bioethanol production from pulp and paper sludge, 208 (2016) 100–109.
- [11] L.S. Serafim, P.C. Lemos, M.G.E. Albuquerque, M.A.M. Reis, Strategies for PHA production by mixed cultures and renewable waste materials, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 81 (2008) 615–628.
- [12] P. Carreira, J.A.S. Mendes, E. Trovatti, L.S. Serafim, C.S.R. Freire, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto, Utilization of residues from agro-forest industries in the production of high value bacterial cellulose, *Bioresour. Technol.* 102 (2011) 7354–7360.
- [13] Unctad, The State of the Biofuels Market : regulatory, trade and development perspectives, (2014) 84–88.

- [14] C.S.R. Freire, S.C.M. Fernandes, A.J.D. Silvestre, C. Pascoal Neto, Novel cellulose-based composites based on nanofibrillated plant and bacterial cellulose: recent advances at the University of Aveiro – a review, *Holzforschung*. 67 (2013) 603–612.
- [15] F.P. Gomes, N.H.C.S. Silva, E. Trovatti, L.S. Serafim, M.F. Duarte, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto, C.S.R. Freire, Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue, *Biomass and Bioenergy*. 55 (2013) 205–211.
- [16] Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, 6º Inventárioa Florestal Nacional, 2013.
- [17] R.M.A. Domingues, G.D.A. Sousa, C.S.R. Freire, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto, *Eucalyptus globulus* biomass residues from pulping industry as a source of high value triterpenic compounds, *Ind. Crops Prod.* 31 (2010) 65–70.
- [18] R.P. Kibblewhite, B.I. Johnson, C.J.A. Shelbourne, Kraft pulp qualities of *Eucalyptus nitens*, *e. globulus*, and *e. maidenii*, at ages 8 and 11 years, New Zeal. J. For. Sci. 30 (2000) 447–457.
- [19] R.M.A. Domingues, M.M.R. de Melo, C.P. Neto, A.J.D. Silvestre, C.M. Silva, Measurement and modeling of supercritical fluid extraction curves of *Eucalyptus globulus* bark: Influence of the operating conditions upon yields and extract composition, *J. Supercrit. Fluids*. 72 (2012) 176–185.
- [20] R.M.A. Domingues, M.M.R. de Melo, E.L.G. Oliveira, C.P. Neto, A.J.D. Silvestre, C.M. Silva, Optimization of the supercritical fluid extraction of triterpenic acids from *Eucalyptus globulus* bark using experimental design, *J. Supercrit. Fluids*. 74 (2013) 105–114.
- [21] D.J.S. Patinha, R.M.A. Domingues, J.J. Villaverde, A.M.S. Silva, C.M. Silva, C.S.R. Freire, C.P. Neto, A.J.D. Silvestre, Lipophilic extractives from the bark of *Eucalyptus grandis x globulus*, a rich source of methyl morolate: Selective extraction with supercritical CO₂, *Ind. Crops Prod.* 43 (2013) 340–348.
- [22] P.C.R. Pinto, G. Sousa, F. Crispim, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto, *Eucalyptus globulus* Bark as Source of Tannin Extracts for Application in Leather industry, *ACS Sustain. Chem. Eng.* 1 (2013) 950–955.
- [23] M.M.R. de Melo, R.M.A. Domingues, M. Sova, E. Lack, H. Seidlitz, F. Lang Jr.,

- A.J.D. Silvestre, C.M. Silva, Scale-up studies of the supercritical fluid extraction of triterpenic acids from *Eucalyptus globulus* bark, *J. Supercrit. Fluids*. 95 (2014) 44–50.
- [24] H. Sixta, Handbook of Pulp-Volume 1, Wiley-VCH, 2006.
- [25] R.M. de Andrade Domingues, C.S. da Rocha Freire Barros, A.J. Domingues Silvestre, C.P. Neto, C.M. Santos Silva, Método para a obtenção de um extrato rico em ácidos triterpénicos da casca de eucalipto, PT 106278, 2012.
- [26] M.M.R. de Melo, R.M. a. Domingues, A.J.D. Silvestre, C.M. Silva, Extraction and purification of triterpenoids using supercritical fluids: from lab to exploitation, *Mini. Rev. Org. Chem.* (2014) 362–381.
- [27] L.E. Laroze, B. Díaz-Reinoso, A. Moure, M.E. Zúñiga, H. Domínguez, Extraction of antioxidants from several berries pressing wastes using conventional and supercritical solvents, *Eur. Food Res. Technol.* 231 (2010) 669–677.
- [28] R. Arroo, E. Breitmaier, Terpenes—flavors, fragrances, pharmaca, pheromones, *Appl. Organomet. Chem.* 21 (2007) 377.
- [29] M.A.A. Meireles, Extracting bioactive compounds for food products : theory and applications, CRC Press, 2009.
- [30] J. Moncada, J.A. Tamayo, C.A. Cardona, Techno-economic and environmental assessment of essential oil extraction from Citronella (*Cymbopogon winteriana*) and Lemongrass (*Cymbopogon citratus*): A Colombian case to evaluate different extraction technologies, *Ind. Crops Prod.* 54 (2014) 175–184.
- [31] M.M.R. de Melo, A.J.D. Silvestre, C.M. Silva, Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology, *J. Supercrit. Fluids*. 92 (2014) 115–176.
- [32] C. Turner, Overview of Modern Extraction Techniques for Food and Agricultural Samples, in: 2006: pp. 3–19.
- [33] R. Ekman, The Suberin Monomers and Triterpenoids from the Outer Bark of *Betula verrucosa* Ehrh., *Holzforschung*. 37 (1983) 205–211.
- [34] R.M.A. Domingues, E.L.G. Oliveira, C.S.R. Freire, R.M. Couto, P.C. Simões, C.P. Neto, A.J.D. Silvestre, C.M. Silva, Supercritical fluid extraction of *Eucalyptus globulus* bark-A promising approach for triterpenoid production, *Int. J. Mol. Sci.* 13 (2012) 7648–7662.

- [35] H. Brevard, E. Cantergiani, T. Cachet, A. Chaintreau, J. Demyttenaere, L. French, K. Gassenmeier, D. Joulain, T. Koenig, H. Leijts, P. Liddle, G. Loesing, M. Marchant, K. Saito, F. Scanlan, C. Schippa, A. Scotti, F. Sekiya, A. Sherlock, Guidelines for the quantitative gas chromatography of volatile flavouring substances, from the Working Group on Methods of Analysis of the International Organization of the Flavor Industry (IOFI), *Flavour Fragr. J.* 26 (2011) 297–299.
- [36] E.O. Faboro, L. Wei, S. Liang, A.G. McDonald, C.A. Obafemi, Characterization of dichloromethane and methanol extracts from the leaves of a medicinal plant: *Globimetula oreophila*, *Ind. Crops Prod.* 83 (2016) 391–399.
- [37] D.C. Montgomery, G.C. Runger, *Applied Statistics and Probability for Engineers*, 3rd ed., John Wiley & Sons, Inc., 2003.
- [38] R. Turton, R.C. Bailie, W.B. Whiting, J. a. Shaeiwitz, D. Bhattacharyya, *Analysis, Synthesis, and Design of Chemical Processes*, 2001.
- [39] P.F. Martins, M.M.R. De Melo, C.M. Silva, Techno-economic optimization of the subcritical fluid extraction of oil from *Moringa oleifera* seeds and subsequent production of a purified sterols fraction, *J. Supercrit. Fluids.* 107 (2016) 682–689.
- [40] C.G. Pereira, M.A.A. Meireles, Economic analysis of rosemary, fennel and anise essential oils obtained by supercritical fluid extraction, *Flavour Fragr. J.* 22 (2007) 407–413.
- [41] M.M.R. de Melo, H.M.A. Barbosa, C.P. Passos, C.M. Silva, Supercritical fluid extraction of spent coffee grounds: Measurement of extraction curves, oil characterization and economic analysis, *J. Supercrit. Fluids.* 86 (2014) 150–159.
- [42] J.M. Prado, I. Dalmolin, N.D.D. Carareto, R.C. Basso, A.J.A. Meirelles, J. Vladimiro Oliveira, E.A.C. Batista, M.A.A. Meireles, Supercritical fluid extraction of grape seed: Process scale-up, extract chemical composition and economic evaluation, *J. Food Eng.* 109 (2012) 249–257.
- [43] NATAC, Industrial viability of the extraction of triterpenic compounds from eucalyptus biomass residues, 2014.
- [44] H.S.K. Jim J, Ko Y. I., Kim Y. M., Solubilization of oleanolic acid and ursolic acid by cosolvency., *Arch. Pharm. Res.* 20 (1997) 269–274.
- [45] J.P. Fan, T. Kong, L. Zhang, S. Tong, Z.Y. Tian, Y.H. Duan, X.H. Zhang, Solubilities of ursolic acid and oleanolic acid in four solvents from (283.2 to 329.7)

- K, J. Chem. Eng. Data. 56 (2011) 2723–2725.
- [46] Y. Cheng, Y. Shao, W. Yan, Solubilities of betulinic acid in thirteen organic solvents at different temperatures, J. Chem. Eng. Data. 56 (2011) 4587–4591.
- [47] J.P. Fan, T. Kong, X.H. Zhang, L. Zhang, S. Tong, Z.Y. Tian, J.H. Zhu, Solubilities of oleanolic acid and ursolic acid in (ethanol + water) mixed solvents from T = (292.2 to 328.2) K, J. Chem. Thermodyn. 47 (2012) 372–375.
- [48] P.I.N. Carvalho, J.F. Osorio-Tobón, M.A. Rostagno, A.J. Petenate, M.A.A. Meireles, Techno-economic evaluation of the extraction of turmeric (*Curcuma longa* L.) oil and ar-turmerone using supercritical carbon dioxide, J. Supercrit. Fluids. 105 (2015) 44–54.
- [49] N.C.M.C.S. Leitão, G.H.C. Prado, P.C. Veggi, M.A.A. Meireles, C.G. Pereira, *Anacardium occidentale* L. leaves extraction via SFE: Global yields, extraction kinetics, mathematical modeling and economic evaluation, J. Supercrit. Fluids. 78 (2013) 114–123.
- [50] Methanex, Methanex, (2016). <https://www.methanex.com/our-business/pricing> (accessed August 20, 2016).
- [51] R.K. Sinnott, J.M. Coulson, J.F. Richardson, Coulson & Richardson's Chemical Engineering: Chemical Engineering Design, 3rd ed., Butterworth-Heinemann, 2004.
- [52] Chemical Engineering Plant Cost Index, (2015).

6. Anexos

6.1. Ensaios preliminares

No capítulo de ensaios preliminares (3.1) são apresentados gráficos que representam a quantidade relativa de extrato que é possível obter, quando se compara o valor máximo, referente à extração Soxhlet, com extração em *batch*. Foram, no entanto, obtidos os valores absolutos de rendimento total obtidos em *batch*, para 24 horas, com 3 solventes e 2 tipos de matéria-prima, que se encontram sumariados na Figura 28.

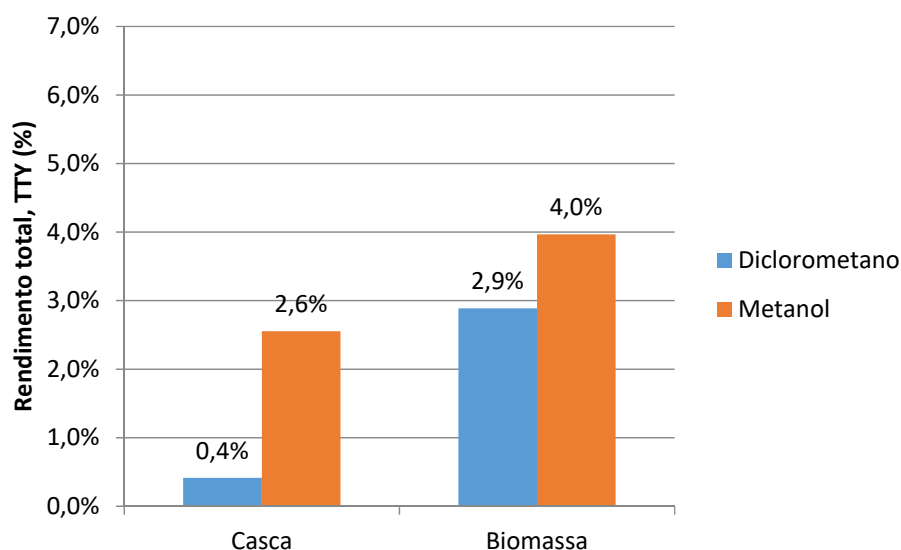


Figura 28 Rendimento total em extração *batch*, para um tempo de extração de 24 horas e rácio de 1g/6.7mL

Este gráfico permite demonstrar, não só a capacidade que diversos solventes possuem para a extração, como também a diferença entre as matérias-primas, através do rendimento total em ácidos triterpénicos e da concentração destes no extrato final, Figura 29

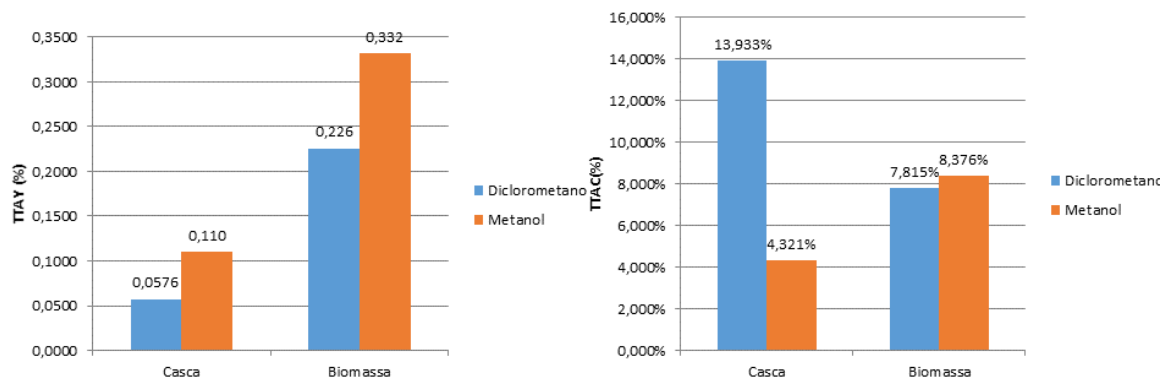


Figura 29 Rendimento total em ácidos triterpénicos e concentração de ácidos triterpénicos no extrato obtido, para extração *batch* durante 24 horas e rácio de 1g/6.7mL

6.2. Composição dos extratos obtidos na otimização experimental

Durante a discussão dos resultados foram apresentados dados de rendimentos em ácidos triterpênicos e concentrações de ácidos triterpênicos no extrato. Para a obtenção destes dados realizou-se a caracterização individual dos extratos, e a quantificação dos ácidos triterpênicos no extrato, encontrando-se os dados obtidos compilados na Tabela 10.

Tabela 10 Composição dos extratos obtidos, em ácidos triterpênicos, para os ensaios realizados na otimização experimental, em mg/kg

Composto	1	2	3	4	5	6
Ácido betulônico	333.519	127.507	172.028	421.682	357.727	68.661
Ácido Oleanólico	425.017	323.912	350.090	412.226	496.169	235.687
Ácido betulínico	144.027	135.125	80.303	113.987	124.174	71.007
Ácido ursólico	836.833	613.753	688.132	673.027	878.113	336.116
Ácido acetilbetulínico	280.629	90.326	109.249	151.852	196.531	55.781
Ácido acetiuursólico	127.621	62.468	75.972	111.550	81.464	55.993
Total	2147.645	1353.092	1475.773	1884.323	2134.179	823.246

Composto	7	8	9	10	11	12
Ácido betulônico	297.525	220.178	409.873	306.019	348.486	346.607
Ácido Oleanólico	304.574	289.655	673.767	390.308	380.648	401.894
Ácido betulínico	97.891	55.911	159.947	103.284	82.050	110.518
Ácido ursólico	476.827	606.077	1103.932	547.702	556.864	757.326
Ácido acetilbetulínico	105.541	34.445	99.846	162.955	215.144	197.047
Ácido acetiuursólico	90.092	62.440	81.382	123.009	87.150	165.816
Total	1600.359	1645.632	1894.774	1923.342	2952.738	3775.665

Composto	13	14	15	16	17	18
Ácido betulónico	488.524	445.041	820.708	370.036	524.570	366.273
Ácido Oleanólico	426.048	660.300	844.619	339.182	558.033	549.000
Ácido betulínico	125.281	136.718	197.981	114.047	115.834	138.679
Ácido ursólico	601.560	1477.804	1475.444	607.248	970.030	1290.392
Ácido acetilbetulínico	158.919	145.727	271.097	361.277	217.708	293.602
Ácido acetiursólico	123.009	87.150	165.816	71.868	107.805	110.030
Total	1923.342	2952.738	3775.665	1863.657	2493.981	2747.977

6.3 Dimensionamento do permutador de calor para o caso com recuperação do solvente

No entanto quando se analisa o custo de produção em função do número de passagens, Figura 27, este atinge um valor mínimo quando se realizam 3 passagens com o mesmo solvente, apesar da diminuição da quantidade de extrato produzida, de 2.0€ por kg de extrato. É, no entanto, importante referir que a reutilização do solvente para mais do que uma passagem implica a existência de um novo equipamento, um condensador/arrefecedor, que condense o solvente após o evaporador, e permita que este seja arrefecido até à temperatura correta.

Para o caso em que se obtém o custo de produção mais baixo, que corresponde a 3 passagens do solvente, realizou-se a determinação da área de um permutador de calor que permitisse dar resposta às necessidades energéticas do processo.

$$Q = UA\Delta T_{lm} \quad (11)$$

Utilizando um coeficiente global de transferência de calor de $700 \text{ Wm}^{-2}\text{C}^{-1}$, valor típico para um condensador em que o fluido quente são compostos orgânicos e o fluido de arrefecimento é água [51]. A temperatura de entrada e de saída do fluido quente é de 65°C e 25°C respetivamente, e a temperatura de entrada e de saída do fluido quente é de 20°C e 30°C respetivamente. O calor a transferir pelo permutador de calor é de $1.878 \times 10^7 \text{ kJ/h}$. Com estes dados é possível obter uma área de transferência de calor, tendo-se obtido um valor para a mesma de 483.48 m^2 . Assumindo um permutador de carcaça e tubos, em que quer a carcaça quer os tubos são feitos do mesmo material, aço de carbono, obtém-se um custo para o permutador de 75443.6\$ a preços de 2004 [51]. Utilizando o CEPCI de 2004 de 444.9 e de julho de 2015 de 597.9 [52], com uma taxa cambial de 0.896 €/€, obtém-se o custo do permutador de 90904.45 €.